CENTRALBLATT

für

Bakteriologie, Parasitenkunde u. Infektionskrankheiten.

Zweite Abteilung. VI. Band.

CENTRALBLATT

für

Bakteriologie, Parasitenkunde

und Infektionskrankheiten.

In Verbindung mit

Prof. Dr. **Adametz** in Wien, Prof. Dr. **M. W. Beijerinck** in Delft, Geh. Regierungsrat Prof. Dr. **A. B. Frank** in Berlin, Dr. **v. Freudenreich** in Bern, Privatdocent Dr. **Lindau** in Berlin, Prof. Dr. **Lindner** in Berlin, Dr. **Morris**, Chef des Hansen-Laboratory, Jenner-Institute of Preventive Medicine in London, Prof. Dr. **Müller-Thurgau** in Wädensweil, Dr. **Erwin F. Smith** in Washington, D. C., U. S. A., Prof. Dr. **Stutzer** in Breslau, Prof. Dr. **Wehmer** in Hannover, Prof. Dr. **Weigmann** in Kiel und Prof. Dr. **Winogradsky** in St. Petersburg

herausgegeben von

Dr. Oscar Uhlworm in Cassel

und

Prof. Dr. Emil Christian Hansen in Kopenhagen.

Zweite Abteilung. VI. Band.

Allgemeine, landwirtschaftlich-technologische Bakteriologie, Gärungsphysiologie und Pflanzenpathologie.

Mit 17 Tafeln, 1 Karte, 1 Kurve und 34 Abbildungen im Texte.

Jena,

Verlag von Gustav Fischer.

1900.

CENTRALBLATT
für
Bakteriologie, Parasitenkunde u. Infektionskrankheiten.

Zweite Abteilung:
Allgemeine, landwirtschaftlich-technologische Bakteriologie, Gärungsphysiologie, Pflanzenpathologie und Pflanzenschutz.

In Verbindung mit
Prof. Dr. **Adametz** in Wien, Prof. Dr. **M. W. Beijerinck** in Delft, Geh. Regierungsrat Prof. Dr. **A. B. Frank** in Berlin, Dr. **v. Freudenreich** in Bern, Privatdocent Dr. **Lindau** in Berlin, Prof. Dr. **Lindner** in Berlin, Dr. **Morris**, Chef des Hansen-Laboratory, Jenner-Institute of Preventive Medicine in London, Prof. Dr. **Müller-Thurgau** in Wädensweil, Dr. **Erwin F. Smith** in Washington, D. C., U. S. A., Prof. Dr. **Stutzer** in Breslau, Prof. Dr. **Wehmer** in Hannover, Prof. Dr. **Weigmann** in Kiel und Prof. Dr. **Winogradsky** in St. Petersburg
herausgegeben von
Dr. O. Uhlworm in Cassel
und
Prof. Dr. Emil Christian Hansen in Kopenhagen.

Verlag von Gustav Fischer in Jena.

VI. Bd. Jena, den 10. Januar 1900. **No. 1.**

Jährlich erscheinen 26 Nummern. Preis für den Band (Jahrgang) 20 Mark. Preis für eine einfache Nummer 75 Pfg., für eine Doppelnummer 1 Mark 50 Pfg. Nummern mit Tafeln kosten für jede Tafel 50 Pfg. mehr.
Hierzu als regelmäfsige Beilage die Inhaltsübersichten der I. Abteilung des Centralblattes.

Wünsche wegen Lieferung von besonderen Abdrücken wollen die Herren Mitarbeiter auf die Manuskripte schreiben oder bei Rücksendung der ersten Korrekturabzüge der Verlagsbuchhandlung mitteilen.

Die zweite Abteilung:
Allgemeine, landwirtschaftlich-technologische Bakteriologie, Gärungsphysiologie, Pflanzenpathologie und Pflanzenschutz
des Centralblatts für Bakteriologie, Parasitenkunde und Infektionskrankheiten,

welche soeben ihren sechsten Jahrgang beginnt, beabsichtigt, ihr Programm in erweitertem Umfang und mit frischen

Verzweigungen stehen scheinbar regellos an den Mutterzweigen. Bei einigen Varietäten von S. chromogena fällt das Mycel frühzeitig in kurze Glieder auseinander, welche dann gewisse Bakterienarten völlig nachahmen. Die Dicke der Mycelien ist sehr verschieden und kann in bestimmten Fällen derjenigen dünner Penicillium-Fäden gleich werden. In alten Kulturen kommen bisweilen kleine knollenförmige Anschwellungen der Mycelzweige vor, welche an die kolbenartigen Verdickungen von Actinomyces — ebenfalls zu Streptothrix gehörig — erinnern. Nicht selten enden die Mycelzweige in gekrümmte, krallenartige Spitzen, welche, als Hapteren, mit den Humusteilchen des Bodens verwachsen. Die Sporen entstehen an den Enden von „Lufthyphen" reihenweise als trockene, schneeweiße, kugelige, konidienartige Abschnürungen, so daß hier von Arthrosporen geredet werden kann. Sobald die Sporenbildung bei Streptothrix beginnt, verbreiten die Rasen einen sehr intensiven, an Moschus erinnernden Schimmelgeruch, während die Mycelien, wenigstens bei S. chromogena, noch überdies einen sehr eigentümlichen „Erdgeruch" verbreiten[1]). Die Sporen werden durch Luftströmungen von den Räschen fortgeführt; sie sind sehr resistent und langlebig. Selbst in Wasser erhitzt, können viele davon Temperaturen von 70, selbst 80° C überstehen, so daß Streptothrix-Kulturen bisweilen aus pasteurisierten Materialien erhalten werden. Bei 100° C scheinen die Sporen aber ausnahmslos abzusterben. S. chromogena bildet schwieriger Sporen wie S. alba, und einzelne Varietäten bleiben immer sporenfrei.

Sowohl S. chromogena wie S. alba sind sehr allgemein verbreitete Erdmikroben, welche besonders reichlich in und bei Pflanzenwurzeln vorkommen. In Gartenerde fand ich dieselben bis zu 1 m hinab, und in der Tiefe, wenn auch absolut nur wenig, relativ doch zahlreicher wie andere Erdmikroben, was auf deren Resistenz ungünstigen Ernährungsbedingungen gegenüber hinweist. Im Dünensand gelang der Nachweis bis zu 2 m Tiefe, und S. chromogena wurde im Bodenschlamm der Maas vor Kralingen unter 3 m Wassertiefe gefunden. Auch im Maaswasser selbst sind beide Formen nicht selten. Bekanntlich wird S. chromogena in den Laboratorien oft auf den Fleischgelatineplatten angetroffen, welche der Luft ausgesetzt waren, wo sie sich auszeichnen durch die Bildung eines dunkelbraunen, weit diffundierenden Farbstoffes.

Wie gesagt, findet Streptothrix sich sehr allgemein in und bei Pflanzenwurzeln. Sie bewohnt die oberflächlichen Zellschichten der letzteren und kommt darin vor als Saprophyt, nicht aber als Parasit. Wurzeln und andere unterirdische Pflanzenteile untersuchte ich, wie folgt: Zunächst wurde die Oberfläche sorgfältig mit gekochtem Wasser abgewaschen und mit Leinwand abgetrocknet. Nachdem dieses einige Male wiederholt war, wurde das Material im Achatmörser so fein zerrieben, daß ich annehmen konnte, daß viele Zellen geöffnet und das knäuelartige Mycel zerquetscht und auseinandergelegt war. Die breiartige Masse wird dann in gekochtem Wasser

1) Ich zweifle nicht daran, daß der „Erdgeruch", welcher besonders im Waldboden so oft beobachtet wird, eben auf der Gegenwart von S. chromogena beruht.

weiter verteilt und dieses über die Oberfläche einer Fleischgelatineplatte gegossen. Gewöhnlich werden dann bei den Streptothrix-führenden Wurzeln nach 3—5 Tagen Hunderte von Streptothrix-kolonieen sichtbar. Natürlich entwickeln sich auch mehr oder weniger Bakterienkolonieen, doch ist deren Anzahl desto geringer, je gründlicher die Wurzeloberfläche gereinigt war. Da die Bakterien sehr viel früher aufkommen, wie Streptothrix und besonders die verflüssigenden Arten die Entwickelung der letzteren unterdrücken, ist es wichtig, dieselben so vollständig wie möglich durch das Waschen zu entfernen. Wie man sieht, geht aus dieser Darstellung klar hervor, daß Streptothrix nicht wie die Bakterien einfach von den an der Wurzeloberfläche anhängenden Bodenteilchen herkünftig sein kann, sondern sicher aus den Wurzelzellen selbst kommen muß. Aus sorgfältigen Kulturversuchen muß ich aber schließen, daß nur tote Wurzelzellen Streptothrix-Fäden führen, so daß, wie gesagt, hier nicht an Parasitismus gedacht werden kann.

Die erste auf die genannte Weise untersuchte Pflanze war ein altes Gartenexemplar von Aspidium Filix mas. Nicht allein die Wurzeloberfläche selbst, sondern auch die nächste Umgebung derselben war reichlich mit Streptothrix erfüllt; erst in einer Entfernung von ca. 1 dm von den Pflanzen verminderte sich die Anzahl der Streptothrix sehr bemerklich. Offenbar hatten die abgestorbenen Wurzelteile der Pflanze ein gutes Wachstumsmedium für Streptothrix zurückgelassen. Die zweite Pflanze war ein in einem anderen Garten wachsendes Exemplar von Struthiopteris germanica, wobei ich nahezu dasselbe Resultat erhielt. Osmunda cinnamomea verhielt sich ähnlich.

Bei einer Reihe von Pflanzen konnte ich dagegen Streptothrix nicht oder nur so vereinzelt aus den gereinigten Wurzeln kultivieren, daß ich das Vorkommen nur auf zufällig anhängende Bodenteilchen, mit Streptothrix-Keimen besetzt, zurückführen kann. Dazu gehören zahlreiche Papilionaceen-Wurzeln und deren Knöllchen und die Tabakpflanze, womit ich mich besonders eingehend beschäftigt habe; ebenso die Gramineen.

Durch diese negativen Befunde war ich veranlaßt, zu fragen, ob sich auch irgend eine spezifische Eigenschaft von Streptothrix würde nachweisen lassen, wodurch das Vorkommen derselben in bestimmten Pflanzenwurzeln bedingt oder wahrscheinlich wäre? Ich kam nun auf die Vermutung, daß die braunen, humusartigen Körper, welche für die Oberfläche vieler Pflanzenwurzeln charakteristisch sind und offenbar mit deren Gerbstoffgehalt zusammenhängen, vielleicht in irgend einer Beziehung zu Streptothrix stehen könnten, und wurde dadurch veranlaßt, andere stark braun gefärbte Wurzelrinden auf das Vorkommen von Streptothrix zu untersuchen.

Der Erfolg war durchaus mit der Erwartung in Uebereinstimmung. So untersuchte ich die Wurzeln von Quercus pedunculata, Corylus Avellana, Fagus sylvatica, Ulmus campestris, Alnus glutinosa und erhielt aus allen massenhaft S. chromogena und bisweilen auch S. alba. Waren die Wurzeln durch längeres Waschen sehr sorgfältig gereinigt, so kamen auf den

Platten oft nur Streptothrix-Kolonieen zur Entwickelung. Dieses letztere Resultat erhielt ich z. B. mit Ulmenwurzeln, woraus 4 verschiedene Varietäten von Str. chromogena gezüchtet wurden, und ferner mit Eiche und Haselstaude.

Ich will die Versuche mit Eichenwurzeln noch besonders besprechen. Zunächst suchte ich festzustellen, wie die Verbreitung von Streptothrix mit dem Alter der Wurzeln zusammenhängt. Dazu wurden erstens die korallenartigen, noch mit Wurzelhaaren und der Calyptra bedeckten Endverzweigungen gereinigt, zerrieben und ausgesät. Es fand sich darauf S. chromogena, jedoch nur in äußerst geringer Anzahl. Zweitens verwendete ich verschiedene mit Pilzmycel bekleidete Wurzeln, nämlich eine schwarze, mit dicht anliegendem und eine weiße, mit flockenartigem, sich weit verbreitendem, einen starken Erdgeruch abgebendem Mycel, welche ich beide in meinem Garten auffinden konnte, wenn auch, im Vergleich mit normalen Wurzelspitzen, nur selten[1]. Bei Aussaat erhielt ich daraus vereinzelte Kolonieen von Str. chromogena. In dritter Linie untersuchte ich die älteren Wurzelteile, welche zwar noch mit der primären Rinde bedeckt waren, worin jedoch das sekundäre Wachstum anfing und so ein Beginn von Absterben in den primären Rindenzellen schon stattfinden möchte; S. chromogena findet sich darin massenhaft. Da ich auch bei den übrigen untersuchten Baumwurzeln ähnliche Resultate erhielt, schließe ich, daß S. chromogena besonders die absterbenden Zellen der Wurzelrinde bevorzugt. Eine krautartige Pflanze, welche ebenfalls auf Grund des hohen Gerbstoffgehaltes untersucht wurde, nämlich Polygonum bistorta, gab ganz ähnliche Resultate, nur gehörten die daraus abgesonderten Kolonieen allein zu S. alba.

Schließlich untersuchte ich noch die außerordentlich feinen Haarwurzeln von Rhododendron ponticum, Azalea mollis, A. indica und Calluna vulgaris. Aus allen erhielt ich zahlreiche Streptothrix-Kolonieen, offenbar aus der anhängenden Erde, welche aus den feinen Wurzelgeflechten nur schwierig zu entfernen war, jedoch wurde ihre Erkennung sehr erschwert durch das massenhafte Vorkommen von stark verflüssigenden Bakterien, besonders B. fluorescens liquefaciens und einer eigentümlichen blauen Pigmentbakterie (Bacillus caeruleus n. s.), welche in humusreicher Erde allgemein ist.

Ich muß annehmen, daß Streptothrix nur deshalb die Wurzeln bevorzugt, weil sie in und bei denselben ihre geeignete Nahrung findet, ohne daß dabei an irgend einen anderen spezifischen Einfluß seitens der lebenden Wurzel gedacht werden kann.

2. Ernährungsbedingungen und Rolle von S. chromogena im Kulturboden.

Obschon ich also meine, daß hier an ein symbiotisches Verhältnis im gewöhnlichen Sinne nicht gedacht werden kann, halte ich

1) Die Mycelien gehören zu Merulius oder irgend einer mit Merulius verwandten Basidiomycetengattung. Sie sind es, welche zur Aufstellung der berüchtigten „Mykorrhiza" geführt haben.

es doch für wahrscheinlich, daß Streptothrix für die Pflanzen auf irgend eine Weise nützlich sein muß, und daß die Ernährungsbedingungen derselben über diesen Nutzen Licht verbreiten können. Streptothrix gehört zu den omnivoren Mikroben und kann sich sowohl unter sehr üppigen wie unter außerordentlich ungünstigen Ernährungsbedingungen erhalten und vermehren. Einerseits findet z. B. ein kräftiges Wachstum statt in Fleischbouillon und in Malzwürze, welche zu den besten Nahrungsböden für Mikroben überhaupt gehören. Andererseits konnte ich ziemlich reichhaltige Kulturen bekommen in einer Flüssigkeit von folgender Zusammensetzung: Destilliertes Wasser mit 0,05 Proz. KH^2PO^4, 0,05 Proz. $MgSO^4$ und 1 Proz. Glukose, wo also gebundener Stickstoff nicht absichtlich hinzugefügt war. Bei ca. 28° C entstanden in dieser Kulturflüssigkeit, ähnlich wie in Fleischbouillon, nach 3—4 Tagen sehr zahlreiche Flöckchen, welche wie kleine Schimmelrasen aussehen und sich nicht in einzelne Fäden auflösen. Man würde sich jedoch irren, hieraus zu folgern, daß Streptothrix überhaupt keinen gebundenen Stickstoff verlangt; dieser kommt im vorliegenden Falle aus dem destillierten Wasser selbst und aus der Laboratoriumsluft in eben zureichender Menge, um das Stickstoffbedürfnis der Streptothrix-Ernte zu decken, und durch besonders dafür eingerichtete Versuche bin ich überzeugt, daß Bindung von freiem atmosphärischen Stickstoff durch Streptothrix nicht stattfindet, obschon ich hervorheben will, daß das Stickstoffbedürfnis hier ein auffallend geringes ist und bei oberflächlicher Betrachtung zur entgegengesetzten Ansicht führen könnte. Bei Gegenwart von Glukose kann jede dargereichte Stickstoffverbindung assimiliert werden; speziell konnte ich dieses nachweisen für Ammonsalze, Nitrate und Nitrite, Asparagin und Pepton, und zwar besonders bei großer und größter Verdünnung.

Die Festlegung der geringsten Spuren gebundenen Stickstoffs in und bei den Pflanzenwurzeln kann vielleicht insoweit nützlich werden, als dadurch Stickstoffverluste durch abfließendes Wasser vorgebeugt und, wenn die Streptothrix-Fäden an und für sich absterben und in Desorganisation übergehen, der Pflanze wieder zu Nutzen kommen werden.

Dazu kommt, daß es für die Pflanzen wichtig sein kann, wenn kräftige Lebensprozesse im Boden stattfinden, welche nur bestimmte Mikroben, und weder die Pflanzenwurzeln selbst, noch die gewöhnlichen Erdbakterien besorgen können. Hierbei denke ich speziell an die noch so rätselhaften Vorgänge, welche bei der Humusbildung stattfinden müssen und wobei die Streptothrix-Arten, sowohl S. chromogena wie S. alba, wohl sicher beteiligt sind, vielleicht dabei sogar eine Hauptrolle spielen. Dieselben sind dazu nicht nur durch die beschriebenen Ernährungsbedingungen, sondern auch durch folgende Eigenschaften besonders befähigt: Sie sind fakultativ, d. h. temporär anaërob, wodurch sie sich den Bakterien nähern, und von den meisten echten Schimmelarten, mit denen ihre Wachstumsweise im übrigen übereinstimmt, abweichen. Sie erzeugen tryptische und diastatische Enzyme. Sie können sich sowohl dualistisch ernähren mit irgend einer Kohlenstoffverbindung und einer gesonderten

Stickstoffquelle, wie auch mit eiweißartigen Körpern, und zwar besonders Peptonen allein, wodurch sie sich von zahlreichen anderen Erdmikroben unterscheiden, welche sich nur dualistisch ernähren, und deshalb an enger bestimmte Lebensverhältnisse angepaßt sind, endlich ist S. chromogena, wie unten näher besprochen, chinonerzeugend, d. h. er produziert einen Körper, welcher als Ozonide oder Sauerstoffträger fungieren kann. Daß sie auf abgestorbenen Pflanzenteilen ganz spezifische Wirkungen äußern und deren Humifikation kräftig unterstützen, steht für mich fest. Daß dabei dem Chinon eine wichtige Rolle zukommt, ist wahrscheinlich. Im Vergleich mit den gewöhnlichen Erdbakterien wird vielleicht noch Bedeutung auf den Umstand zu legen sein, daß Streptothrix keine besonderen Gärungen hervorruft, und deshalb nicht zu beträchtlichen Verlusten an Kohlenstoffverbindungen veranlaßt. Aus Glukose und anderen Zuckerarten wird etwas Säure gebildet, wahrscheinlich Milchsäure.

Eine besondere Eigenschaft der Streptothrix ist noch das kräftige Vermögen, Nitrate zu Nitriten zu reduzieren. Obschon diese Eigenschaft bei vielen Erdmikroben ausgebildet ist, dürfte kaum irgend eine andere in dieser Beziehung aktiver sein. Sollte durch die Einwirkung der Nitrite auf Ammonsalze bei Gegenwart von Kohlensäure, Humussäure oder anderer organischer Säuren Entbindung freien Stickstoffes stattfinden, so kann dieses jedenfalls nur minimalen Stickstoffverlust veranlassen, und zwar nur im Garten- oder Ackerboden, und nicht an dem eigentlichen Tummelplatze von Streptothrix, nämlich im Waldboden, weil hier bekanntlich Nitrate und Nitrite beinahe gänzlich fehlen. Ueberhaupt betrachte ich diesen Vorgang in quantitativer Beziehung als ganz unbedeutend, und bin überzeugt, daß die eventuellen Stickstoffverluste, die im Boden und im Miste entstehen, auf Stickstoff- oder Ammoniakentwickelung durch die völlige Oxydation der organischen Stoffe, besonders unter Einfluß der „Heupilze“ beruhen.

Fasse ich meine Meinung über die Beziehung von Streptothrix zu den Pflanzenwurzeln kurz zusammen, so komme ich also zu der Ansicht, daß diese Mikroben den höheren Pflanzen nützlich werden können durch ihre eigentümliche Lebensweise, ihre Ernährungsbedingungen und ihren Beitrag an der Humusbildung.

3. Ueber den Nachweis von Chinon in den Chromogenakulturen.

Ich wurde auf die Chinonbildung durch S. chromogena aufmerksam durch die Entdeckung dreier Reaktionen in den Gelatinekulturen, welche für das Benzochinon charakteristisch sind.

Zunächst war mir aufgefallen, daß Ferrisalze die durch S. chromogena gebräunte Gelatine oder eine in Peptonlösung geführte Kultur schwärzlich färben. Dann ergab sich, daß die Kulturgelatine alter Gelatinekulturen in kochendem Wasser unlöslich wird, genau als wenn man freies Chinon oder irgend ein Chromsalz bei Lichtzutritt auf die Gelatine hat einwirken lassen. Diese Reaktion ist für Chinon sehr charakteristisch und, wie man sich leicht überzeugen kann, gänzlich verschieden von der Einwirkung von Gerbstoff, woran man

unwillkürlich bei ähnlichen Wirkungen denkt. Auf die Entstehung einer unlöslichen Verbindung zwischen Gelatine und Chinon beruht es ebenfalls, daß S. chromogena, welche Trypsin erzeugt, nur sehr kurz zur Verflüssigung der Gelatine Veranlassung giebt und nur an der Stelle, wo der S. chromogena-Rasen die Gelatine direkt berührt und also besonders stark hat einwirken können.

Diese Reaktionen würde ich jedoch niemals für die Identifizierung des Chinons als zureichend betrachtet haben, wenn dazu nicht die wichtige Eigenschaft der Chromogena-Kulturen käme, daß sie bei Gegenwart von Salzsäure aus Jodkalium Jod frei machen, welches als Jodstärke leicht nachzuweisen ist. Diese Reaktion ist in gut gelungenen Kulturen eine so intensive, daß ich anfangs glaubte, es könnte nur salpeterige Säure vorliegen. Doch läßt sich leicht nachweisen, daß dem nicht so ist, denn alle anderen für salpeterige Säure charakteristischen Reaktionen, so z. B. die Diphenylaminreaktion, fehlen in salpeterfreien Chromogena-Kulturen, welche die Jodstärkereaktion sehr kräftig geben, vollständig.

Da die Chinonbildung nur bei reichlichem Zutritte von Sauerstoff stattfindet, ist dieselbe besonders in den Gelatinekulturen kräftig, schwächer dagegen in den Nährlösungen, worin die meisten Chromogena-Rasen untersinken.

Für den Chinonnachweis in den Kulturen auf festem Substrate sind die verschiedenartigsten Kulturböden geeignet. Ein gutes Resultat erhält man z. B. auf folgende Weise:

Käufliche Gelatine wird zu 10 Proz. in Leitungswasser gelöst, sehr schwach angesäuert mit einigen Tropfen Milchsäure und etwas Stärke zugesetzt. Es wird zu einer Schicht ausgegossen in eine Glasdose und nach dem Erstarren wird die Oberfläche entweder für Impfstriche oder Kolonieenkulturen von S. chromogena verwendet. Bei 23° C gestellt, bemerkt man nach ein oder zwei Tagen, daß das Wachstum beginnt und damit die Braunfärbung der Gelatine infolge der langsamen Oxydation eines Teiles des gebildeten Chinons. Diese Oxydation wird jedoch durch die Gegenwart der Säure verzögert und das Chinon angehäuft. Uebergießt man deshalb mit Jodkalium, gelöst in verdünnter Salzsäure, so wird, so weit das Chinon fortdiffundiert ist, intensive Blaufärbung des Kulturbodens nachfolgen.

Die Reaktion gelingt übrigens auch ganz gut auf gewöhnlicher Fleischbrühegelatine, wenn diese nur nicht alkalisch reagiert. Ebenso schön, wenn nicht noch besser, auf reinem Agar, ohne jede weitere Zufügung, wie eine Spur Säure oder KH^2PO^4 und etwas Stärke, also auf einem Boden, welcher sich sehr gut mit einem in Verwesung begriffenen Blatte irgend einer Pflanze oder mit anderen ähnlichen im Boden vorkommenden Materialien vergleichen läßt.

Auch frische Urinplatten eignen sich vorzüglich.

Doch muß immer beachtet werden, daß Chinon in alkalischen Lösungen an der Luft unbeständig ist, so daß z. B. für Zählversuche der Streptothrix-Kolonieen, welche aus Erde oder Humus aufkommen, die Aussaat stets, wie oben beschrieben, stattfinden muß auf schwach sauerer Stärkegelatine. Nach der Uebergießung mit Jodkaliumsalzsäure geben solche Platten ein wahrhaft überraschendes

Bild von dem Reichtume des Bodens an S. chromogena und, wie daraus geschlossen werden kann, an freiem Chinon.

Wünscht man Chinonbildung in flüssigen Kulturen nachzuweisen, so empfiehlt sich, entweder sehr schwach sauere Fleischbouillon oder Peptonlösung in Leitungswasser zu verwenden, in beiden Fällen mit etwas Stärke und bei ca. 28° oder 30° C, welche sich als die optimalen Temperaturen für S. chromogena erwiesen haben, zu kultivieren. Der Chinonnachweis, qualitativ wie quantitativ, kann darin dann wieder mit Jodkalium und Stärke stattfinden.

Der direkte Nachweis des Chinons als Chinhydron ist, wenn auch schwierig, folgenderweise gelungen:

Zunächst wurden reichhaltige Chromogena-Kulturen in Lösungen von der Zusammensetzung: 100 Leitungswasser, 0,05 KH^2PO^4, 0,05 $(NH^4)^2SO^4$, 3 Proz. Glukose dargestellt. Diese Kulturen selbst wurden dann ausgegossen über Platten in großen Glasdosen von folgender Zusammensetzung: 100 Leitungswasser, 10 Gelatine, 0,05 KH^2PO^4 und 0,1 lösliche Stärke. Durch diese Aussaatweise erreicht man, daß die ganze Oberfläche der Gelatineplatte überdeckt wird mit gut angewachsenen Chromogena-Rasen, welche sofort anfangen, Chinon zu erzeugen. Nach ein paar Tagen ist die Platte gänzlich mit Chinon getränkt. Allerdings erzeugt S. chromogena etwas Alkali, welches zur Oxydation des Chinons Veranlassung giebt, jedoch ist die Zeit dann noch zu kurz, um zu einem beträchtlichen Chinonverluste zu führen. Man schmilzt nun die Platten, schüttelt das Chinon mit Benzol aus und mischt diese Lösung mit einer Benzollösung von Hydrochinon. Beim langsamen Verdunsten erhielt ich einzelne Krystallnadeln des dichroitischen und auch in anderen Beziehungen sehr charakteristischen Chinhydrons. Das Ausschütteln verflüssigter Gelatine mit Benzol ist jedoch sehr mühsam, weil eine nur schwer sich trennende Emulsion entsteht. Aus Kulturflüssigkeiten konnte ich kein Chinhydron erhalten.

4. Auf welche Weise entsteht das Chinon?

Die lebende Zelle erzeugt auf drei prinzipiell verschiedene Weisen bestimmte chemische Stoffe, nämlich: 1) als Abspaltungsprodukte des lebenden Protoplasmas selbst; man kann diese Körper Autobolite nennen [1]); 2) als Spaltungsprodukte eines fremden Körpers, worauf das Protoplasma katalytisch einwirkt, die Katabolite; und 3) als Produkte von Enzymwirkungen, welche unter Umständen mehr oder weniger weit entfernt von dem aktiven Protoplasma entstehen, die Telebolite. Die Katabolite können wieder in 2 Gruppen gebracht werden, je nachdem sie durch einfache Spaltung des Fremdkörpers entstehen, die Schizobolite, oder durch Spaltung unter zu gleicher Zeit stattfindender Aufnahme anderer Stoffe, die Heterobolite. Bekanntlich können die Produkte der Enzymwirkungen, die Telebolite, ebenso schizobolitisch und heterobolitisch entstehen, in welchem letzteren Falle z. B. Wasser oder Sauerstoff aufgenommen werden [2]).

1) Von βολίς, ein Pfeil, das Abgeworfene.

2) Obschon nach meiner Meinung das Wort „Gärung" nur für diejenigen katabolitischen Prozesse gebraucht werden muß, wobei Gasbildung stattfindet, scheint es

Die Wirkungen der Hefezelle sind geeignet, diese Einteilung näher zu beleuchten. Die Absonderung des Invertins findet unzweifelhaft aus dem Protoplasma selbst statt, so daß dieser Körper ein Autobolit ist. Die Spaltung des Rohrzuckers durch das Invertin erzeugt die Telebolite, Glukose und Lävulose. Die Alkoholbildung aus diesen Zuckern geschieht durch eine katalytische Einwirkung des lebenden Protoplasmas auf diese Zucker, der Alkohol ist deshalb Katabolit [1]).

Es fragt sich nun, zu welcher von diesen Gruppen das Chinon gehört? Da die Entstehung desselben als Produkt eines Enzyms ansgeschlossen ist, handelt es sich um die Entscheidung, ob es als Autobolit oder als Katabolit betrachtet werden muß?

Ich glaube, daß aus den Ernährungsbedingungen von S. chromogena geschlossen werden muß, daß das dadurch gebildete Chinon nur ein Katabolit sein kann, und durch die Wirkung des Chromogena-Protoplasmas auf Pepton oder einen peptonartigen Körper entsteht.

Es hängt nämlich der Chinonreichtum in den Kulturen durchaus nicht zusammen mit dem Reichtume derselben an S. chromogena selbst, sondern mit dem Eiweiß- oder Peptongehalt der Kulturflüssigkeit.

So hat die beste Nährlösung für S. chromogena, welche ich bisher kenne, folgende Zusammensetzung: 100 Leitungswasser, 3 Glukose, 0,1 Stärke, 0,05 Monokaliumphosphat und 0,05 Ammonsulfat. Bei 27 ° C aufgestellt, entstehen darin nach wenigen Tagen massenhaft untergetauchte und schwebende Chromogena-Rasen. Dennoch ist darin die Chinonbildung eine so schwache, daß die Jodstärkereaktion äußerst gering ist, während nach Zusetzung von Ferrichlorid oder Alkali die farblose Kultur farblos verbleibt. Daß die Jodstärkereaktion nicht gänzlich fehlt, erkläre ich daraus, daß beim unvermeidlichen Absterben einzelner Chromogena-Rasen totes Protoplasma entsteht, welches der allerdings schwachen Trypsinwirkung der S. chromogena anheimfallen kann und so peptonartige Körper für die Chinonbildung erzeugt. Doch wird die hier in Betracht kommende Menge bei der außerordentlichen Empfindlichkeit der Jodstärkereaktion sehr gering.

Wenn in der oben genannten Nährlösung das Ammonsulfat durch Asparagin oder Kalisalpeter ersetzt wird, so bleibt das Resultat dasselbe. Nur kann bei der Verwendung von Salpeter als Stickstoffquelle die Jodstärkereaktion nicht für den Chinonnachweis verwendet werden, weil aus dem Salpeter Kaliumnitrit entsteht, und

---

mir, daß viele Autoren, welche den Begriff Gärung viel weiter fassen, und z. B. von Pigmentgärung, Schleimgärung etc. sprechen, unbewußt von der Verschiedenheit zwischen Auto- und Katabolismus alle katabolischen Vorgänge als Gärungungsvorgänge auffassen wollen. Wenn man aber Gärung und Katabolismus identifiziert, so macht man einen Fehler gegen die Geschichte der Wissenschaft.

1) Mit Verwunderung sehe ich aus der Litteratur, daß Herr E. Buchner, welcher die interessante Thatsache festgestellt hat, daß das lebende Protoplasma aus der Hefezelle gepreßt werden kann, ohne das Vermögen, Alkoholgärung zu verursachen, direkt zu verlieren, noch immer die unhaltbare Meinung verteidigt, daß es sich hierbei um eine Enzymwirkung handelt.

zwar mit einer überraschenden Intensität und Schnelligkeit [1]), so daß man sich hierbei auf die Verfärbungen mit Alkali oder Ferrilösungen durch das Chinon basieren muß, welche jedoch in diesem Falle vollständig ausbleiben, so daß weder Glukose mit Asparagin, noch Glukose mit Nitrat oder Nitrit Chinonquellen sind.

Da diese Verhältnisse gänzlich anders werden, wenn Pepton oder irgend ein anderer eiweißartiger Körper in den Nährlösungen vorkommt und dann, und nur dann allein reichlich Chinonbildung stattfindet, so glaube ich damit meine Annahme, daß nur Pepton oder Eiweiß durch Katabolismus zur Chinonbildung führen, erwiesen zu haben.

3. Dezember 1899.

Nachdruck verboten.

Die Bedeutung der Milchsäurefermente für die Bildung von Eiweisszersetzungsprodukten in Emmenthalerkäsen,

nebst einigen Bemerkungen über die Reifungsvorgänge [2]).

Von **Ed. v. Freudenreich** und **Orla Jensen.**

Die Untersuchungen von Bondzynski [3]) haben gezeigt, daß die Reifung der verschiedenen Käsesorten sich in chemischer Beziehung höchst ungleich gestaltet. In den Weichkäsen besonders gehen in kurzer Zeit viel mehr stickstoffhaltige Substanzen in lösliche Form über, als es selbst nach Jahren in den Hartkäsen der Fall ist. Auf der anderen Seite erleidet in den letzteren eine relativ größere Menge der löslich gemachten stickstoffhaltigen Substanzen eine tiefer gehende Umbildung als in den Weichkäsen. Die Extreme auf beiden Seiten bilden Emmenthalerkäse und Limburgerkäse, wie folgende der Arbeit Bondzynski's entnommene Zahlen zeigen:

Von 100 Teilen des gesamten Stickstoffes sind in Lösung übergegangen	Emmenthalerkäse	Limburgerkäse
Insgesamt	31,93	81,16
In Form von Proteïnstoffen	11,30	77,71
In Form von Eiweißzersetzungsprodukten	20,63	3,45

Nicht alle vollreifen Emmenthalerkäse enthalten ebensoviele Eiweißzersetzungsprodukte, wie der in vorstehender Tabelle angegebene Käse. Man darf jedoch annehmen, daß bei vollreifen Emmenthalerkäsen von dem löslichen Stickstoffe wenigstens 50 Proz. Amidstickstoff ist, mit welchen Ausdrücken wir in Nachfolgendem der Kürze halber den Stickstoff der löslichen Stickstoffsubstanzen, bezw. den Stickstoff der Eiweißzersetzungsprodukte, bezeichnen wollen. Bedeutend niedriger ist dieser Prozentsatz in jungen Emmenthaler-

1) Schon früher wurde bemerkt, daß mir kein anderer Mikrobe bekannt ist, welcher in der Intensität der Nitritbildung aus Nitraten der S. chromogena gleichsteht.

2) Aus dem Landw. Jahrb. der Schweiz. 1899. Arbeit aus dem bakt. Laboratorium der schweiz. landwirtsch. Versuchs- und Untersuchungsanstalten in Bern.

3) Landwirtschaftl. Jahrb. der Schweiz. Bd. VIII. p. 189.

käsen, denn in den späteren Stadien der Reifung bilden sich hauptsächlich Eiweißzersetzungsprodukte. Charakteristisch für die Reifung der Emmenthalerkäse ist also eine starke Bildung von Eiweißzersetzungsprodukten, d. h. ein Emmenthalerkäse ist desto vollkommener gereift, je mehr Amidstickstoff er enthält. Von dieser Betrachtung ausgehend, haben wir es versucht, eine neue Bestätigung der Theorie, nach welcher gewisse Milchsäurefermente und nicht die sogenannten Tyrothrix-Bakterien[1]) die normalen Reifungserreger des Emmenthalerkäses sein sollen, zu gewinnen.

Der Eine von uns hat in einer früheren Arbeit[2]) nachgewiesen, daß Milchsäurefermente, besonders diejenigen Varietäten, welche stets die Hauptmenge der Bakterien im Emmenthalerkäse ausmachen, in neutral gehaltener Milch das Vermögen besitzen, das Kaseïn zu lösen, und zwar sowohl in Form von Proteïnstoffen als auch von Eiweißzersetzungsprodukten.

In vorliegender Arbeit werden wir es versuchen, den Nachweis zu liefern, daß Milchsäurefermente nicht allein in Milch eine solche Lösung und weitere Zersetzung hervorbringen können, sondern auch in Emmenthalerkäsen, und hier gerade auf die für diese Käsesorte oben definierte normale Weise.

Ein idealer Versuch, um dieses Ziel zu erreichen, wäre es, wenn man frische Milch, absolut bakterienfrei gewonnen, nach Impfung mit verschiedenen Bakterienarten in vollständig aseptischer Weise verkäsen könnte. Mit Hilfe von Melkmaschinen[3]) und besonderen Apparaten wird dieses vielleicht einmal zu bewerkstelligen sein. Da es jedoch zur Zeit der Vornahme dieser Versuche unserem Laboratorium an der nötigen Ausstattung fehlte, haben wir uns darauf beschränkt, die Versuchskäse aus bei 68—70° pasteurisierter und in einer besonderen Versuchsreihe aus noch höher erhitzter Milch herzustellen. Wenn auch diese Methode nicht ganz einwandsfrei ist, da das Pasteurisieren keine sterile Milch liefert und eine zu hoch gehende Erwärmung, wie wir sehen werden, das Kaseïn derart zu verändern scheint, daß die den Reifungsprozeß charakterisierenden Zersetzungen sich in demselben nur unvollkommen zur Darstellung bringen lassen, so giebt sie doch, wie wir zeigen werden, so deutliche Resultate, daß zuverlässige Schlüsse wohl daraus gezogen werden dürfen.

Zunächst wurden also eine ganze Anzahl von kleinen Versuchskäsen aus pasteurisierter Milch (10 Liter 20 Minuten lang auf 68—70° erwärmt) unter Verimpfung verschiedener Bakterienarten hergestellt und nach wechselnden Zeiträumen bakteriologisch und chemisch unter-

1) Um diese Arbeit nicht ungebührlich auszudehnen, verweisen wir bezüglich der neueren Arbeiten auf diesem Gebiete auf dieses Centralblatt. II. Abt. Bd. V. p. 241 (Ed. v. Freudenreich, Ueber die Beteiligung der Milchsäurebakterien an der Käsereifung).

2) Dieses Centralblatt. Abt. II. Bd. III. p. 231.

3) Freilich sind die von F. C. Harrison mit der Melkmaschine „Thistle“ gemachten Versuche nicht sehr ermutigend, da die mit dieser Maschine gewonnene Milch reicher an Bakterien war als die mit der Hand gemolkene Milch. Indessen dürften mit anderen Maschinen bessere Resultate erzielt werden (dieses Centralblatt. II. Abt. Bd. X. p. 183).

sucht. Jedesmal wurde natürlich ein Kontrollkäse aus der gleichen Milch hergestellt, aber ohne Verimpfung von Bakterien.

Zur Verimpfung kamen Bakterienkulturen in Milchzuckerbouillon und Molken, die der Milch gleichzeitig mit der Labflüssigkeit (Hansen'sche Labtabletten in Wasser gelöst) zugesetzt wurde.

Die zur Anwendung, teils allein, teils zu mehreren, gekommenen Bakterien sind folgende:

Ein in Hartkäsen stets vorkommendes Milchsäureferment, das auch in jeder spontan gerinnenden Milch angetroffen wird, und welches wir für identisch mit dem von Leichmann, Günther und Thierfelder beschriebenen Bacterium lactis acidi halten.

Der von dem Einen von uns in den Annales de Micrographie. T. II. p. 257 näher beschriebene Bacillus α, ein in Emmenthalerkäsen sehr häufig anzutreffendes Milchsäureferment.

Die in früheren Arbeiten des Einen von uns genannten Bacillen ι, γ, δ und ε, ebenfalls aus Käsen isolierte Milchsäurefermente.

Wir werden später vielleicht Gelegenheit haben, alle diese Mikroorganismen genauer zu beschreiben; für jetzt beschränken wir uns darauf, sie ganz kurz zu charakterisieren. Bac. ι ist α sehr ähnlich und vielleicht nur eine Varietät desselben. Bac. γ wurde, wie gesagt, aus Käse isoliert und unterscheidet sich von α besonders durch größere Dicke. Wie α und ι bringt er die Milch zur Gerinnung unter Säurebildung, daher wir ihn zu den Milchsäurefermenten rechnen. Diese 3 Bakterien wachsen auf Molkengelatine unter aëroben Bedingungen, entwickeln sich aber viel kräftiger bei Luftabschluß. Bac. ε dagegen wächst nicht in Molkengelatine bei Zimmertemperatur. Auf Molkenagarplatten entwickelt er sich, aber wenig kräftig; auf diese Weise isoliert man ihn nicht immer aus Emmenthalerkäsen, in denen er doch in großer Menge vorhanden ist; wenn man aber von der Käseemulsion in hohe Agarschicht (Molkenagar) direkt einimpft, so sieht man ihn sich stets stark im Stich entwickeln, freilich vermischt mit anderen Milchsäurefermenten. Aus dem Gemische läßt er sich dann leicht durch Molkenagarplatten isolieren. Die Milch bringt er zur Gerinnung. Charakteristisch ist, daß er im Naturlab in sehr großer Menge vorhanden ist, wie wir bereits in einer früheren Arbeit gezeigt haben[2]), so daß das Naturlab der Käser gleichsam eine Kultur dieses Mikroorganismus darstellt. Wir glauben daher, daß derselbe eine Hauptrolle bei der Reifung der Emmenthalerkäse spielt. In Labflüssigkeiten (Naturlab) verschiedener Herkunft haben wir ihn oder jedenfalls zur gleichen Familie gehörende Varietäten desselben stets gefunden. Bac. ε ist ein ziemlich langer, oft gekrümmter Bacillus, der mit dem in diesem Jahrbuch beschriebenen Bac. caucasicus ziemliche Verwandtschaft zeigt[1]). Bac. δ scheint nach früheren Versuchen[3]) keine wichtige Rolle zu spielen. In milchzuckerhaltigen Nährmedien bildet er Säure, bringt aber Milch nicht immer zur Gerinnung.

---

1) Dieses Centralblatt. II. Abt. Bd. III. p. 545.
2) Landwirtschaftl. Jahrb. der Schweiz. Bd. X. p. 1.
3) Dieses Centralblatt. II. Abt. Bd. V. p. 241.

Als Repräsentanten der Tyrothrix-Gruppe, mit der wir auch einige Versuche machen wollten, wählten wir den von Duclaux beschriebenen Tyrothrix tenuis. In einer neueren Arbeit haben Chodat und Hofman-Bang[1]) wiederum auf Bakterien dieser Gruppe die Aufmerksamkeit gezogen, und zwar besonders wegen eines in Kaseïnkulturen einiger derselben auftretenden „Käsegeruches". Wir glauben zwar, daß letzterer ein viel zu unbestimmter Begriff ist, um, wie von verschiedener Seite geschehen ist, sozusagen als Maßstab der Reifung angesehen zu werden. Der schlechte widerwärtige Geruch, den man gewöhnlich darunter versteht, begleitet die verschiedensten Fäulnisprozesse; er tritt überhaupt in der eigentlichen Käsemasse weniger auf und stammt vielmehr von der Rinde ab, welche der Sitz weitgehender Zersetzungen ist. Bei Emmenthalerkäsen wenigstens riecht das Innere angenehm und aromatisch. Bei Weichkäsen freilich mögen die in der Rinde sich entwickelnden Bakterien mehr Einfluß auf den Geruch haben, indem sie die weiche Masse mit ihren unangenehm riechenden Produkten durchdringen. Doch hätten wir gerne auch mit diesen Bakterien einige Versuche gemacht, und wandten wir uns deswegen an die genannten Forscher mit dem Gesuche um Ueberlassung einiger Kulturen. Da sie indessen nicht erhältlich waren, mußten wir darauf verzichten.

Neben den aus pasteurisierter und noch stärker erhitzter Milch hergestellten kleinen Versuchskäsen schien es uns notwendig, auch noch eine Reihe von Versuchen mit viel größeren Käsen anzustellen, um dem Einwande zu begegnen, daß die mit kleinen Versuchskäsen erhaltenen Resultate nicht auf Käse übertragbar seien, die von normaler Größe und unter normalen Bedingungen reifen (Temperatur, Feuchtigkeitsgrad etc.). Dank dem Entgegenkommen des Herrn Dr. Wüthrich, Direktor der Molkereischule Rütti, konnten diese Käse in der Käserei der Molkereischule selbst von dem Oberkäser, Herrn Held, in kunstgerechter Weise angefertigt und behandelt werden.

Die bakteriologische Untersuchung der Versuchskäse wurde in gewohnter Weise ausgeführt und verweisen wir diesbezüglich auf frühere, in diesem Jahrbuche erschienene Arbeiten. Gleichzeitig wurden auch Geschmack und allfällige Besonderheiten notiert. Für die chemische Untersuchung wurden die im „Schweiz. Lebensmittelbuch". p. 24, angegebenen Methoden in allem Wesentlichen befolgt.

Nach diesen Methoden, welche hauptsächlich Bondzynski's Untersuchungen zu verdanken sind, werden die löslichen stickstoffhaltigen Substanzen einfach mit Wasser aus dem entfetteten und lufttrockenen Käsepulver extrahiert[2]). Die löslichen stickstoffhaltigen Substanzen werden dann in stark saurer Lösung mit Phosphorwolframsäure in Proteïnstoffe (Kaseoglutin) und Eiweißzersetzungsprodukte weiter getrennt. Dieses Verfahren ist zwar nicht absolut genau.

1) Chodat, R. et Hofman-Bang, R. O., Note préliminaire sur les microphytes qui produisent la maturation du fromage. (Bulletin de l'Herbier Boissier. T. XI. No. 9.)

2) Wo nichts anderes gesagt ist, wurde zunächst 2 Stunden bei 50° und dann 15 Stunden bei Zimmertemperatur extrahiert, wie es Bondzynski gethan hatte.

Erstens geht von dem Käsepulver mehr oder weniger in Lösung über, je nach der Dauer der Extraktion und der Temperatur, bei der sie vorgenommen wird. Zweitens darf man nicht ohne weiteres jeden stickstoffhaltigen Niederschlag, welchen Phosphorwolframsäure hervorbringt, als Eiweißkörper betrachten. Ammoniak und eventuell vorhandene Drechsel'sche Basen werden auch hiermit ausgefällt. Der hierdurch begangene Fehler ist jedoch unbedeutend, da die Menge dieser Stoffe nach allgemeiner Ansicht im Emmenthalerkäse nicht groß ist und das Ammoniak auch für sich ermittelt werden kann.

Da das Filtrierpapier nicht immer einen klaren Käseextrakt giebt, untersuchten wir zunächst, ob durch Anwendung der Chamberland'schen Kerze die Fehlergrenzen bei der Bestimmung des löslichen Stickstoffes sich enger ziehen lassen würden. Nachfolgende Versuche zeigen jedoch, daß es sehr bedenklich ist, die Chamberland'sche Kerze für quantitative Bestimmungen zu verwenden, jedenfalls wenn man nicht immer dieselbe Kerze frisch ausgeglüht zur Verfügung hat, was in Fällen, in welchen es sich um Massenuntersuchungen handelt, eine praktische Unmöglichkeit ist.

Ein durch Filtrierpapier filtrierter Extrakt von Käse 6I[1]) hatte 22,87 Proz. löslichen Stickstoff gegeben (in Prozenten des gesamten Stickstoffes berechnet). Derselbe Extrakt durch eine ganz neue Kerze F filtriert, gab 20,39 Proz. löslichen Stickstoff.

Ein Extrakt desselben Käses durch dieselbe Kerze F filtriert, nachdem sie einige Male gebraucht worden war[2]), gab nur noch 14,04 Proz. löslichen Stickstoff. Der gleiche Extrakt durch eine mehrmals gebrauchte Kerze B gab bloß 6,46 Proz. löslichen Stickstoff.

Ein durch Filtrierpapier filtrierter Extrakt von Käse 1I hatte 21,60 Proz. löslichen Stickstoff gegeben nebst 2,51 Proz. Amidstickstoff. Derselbe Extrakt, durch Kerze B filtriert, gab 5,58 Proz. löslichen Stickstoff und 2,60 Proz. Amidstickstoff.

Aus letzterem Versuche ersieht man, daß die ganze Menge der Eiweißzersetzungsprodukte als krystallisierbare (diffundierbare) Körper durch die Kerze geht, selbst wenn die Hauptmenge der löslichen Proteïnstoffe von derselben zurückgehalten wird. Zieht man den Amidstickstoff von dem gesamten löslichen Stickstoff ab, so bekommt man den Stickstoff der löslichen Proteïnstoffe. In letzterem Versuche ist dieser also 19,09 Proz. mit Papier und 1,98 Proz. mit der Kerze. Die Kerze hat somit in diesem Falle fast $^9/_{10}$ der löslichen Proteïnstoffe zurückgehalten.

---

1) Die hier angegebenen Käse gehören zu den später zu besprechenden großen Versuchskäsen.

2) Die Kerzen wurden natürlich nach jedesmaligem Gebrauche gut gereinigt und getrocknet, aber nicht ausgeglüht. F ist ein schnell, B ein langsamer filtrierendes Kerzenmodell.

(Fortsetzung folgt.)

Nachdruck verboten.

Galaktase, das der Milch eigentümliche proteolytische Ferment, seine Eigenschaften und seine Wirkung auf die Proteide der Milch.

[Beitrag von der Wisconsin Agricultural Experiment Station.]

Von **S. M. Babcock** und **H. L. Russell** in Madison, Wis., U. S. A.

Mit 8 Figuren.

In einer Reihe von Untersuchungen über die Ursache des Reifwerdens von Cheddarkäse ist in einem früheren Artikel[1]) gezeigt worden, daß die Verwandlung der unlöslichen Proteide der Milch in einen digerierten Zustand durch die Wirkung eines nicht organisierten, der Milch selbst inhärierenden Ferments hervorgebracht wird. Weitere Untersuchungen zeigten, daß dieses Enzym ein charakteristisches Produkt der Milchsekretion ist, indem es sich ohne Ausnahme in allen untersuchten Milcharten findet, nicht allein in der Milch der Kuh, sondern auch in der des Schafs, der Ziege, des Schweins, des Pferdes, des Esels, des Büffels und in der menschlichen Milch. Dieses Ferment[2]) erhielt den Namen Italics[3]) wegen seiner eigentümlichen Beziehung zur Milch. Das Studium der Wirkung der umgebenden Einflüsse zeigte, daß dieses Enzym zu der Klasse der proteolytischen Fermente gehört, deren am besten bekannter Repräsentant das Trypsin ist.

Wirkung der chemischen Reaktion.

Um die Beziehung der Galaktase zum Trypsin darzustellen, geben wir die folgende Charakteristik des letzteren Ferments:

Trypsin digeriert Proteide in alkalischer, neutraler und schwach saurer Lösung, seine kräftigste Reaktion liegt um 0,3—0,4 Proz. Na_2CO_3. Freie Mineralsäuren, wie HCl, verhindern seine Wirkung, aber organische Säuren, besonders Milchsäure, sind weniger schädlich. Die Wirkung der Galaktase ist stärker in neutralen oder schwach alkalischen Flüssigkeiten, als in sauer reagierenden. Die folgende Tabelle zeigt dies, sowie den Betrag der Digestion bei verschiedenen Temperaturen, wobei Galaktase-Extrakte zu gekochter Milch zugesetzt wurden. Die Extrakte wurden bei diesen Experimenten aus frisch bereitetem Separatorschlamm erhalten, der so aufbewahrt worden war, daß keine Bakterienwirkung stattfinden konnte. Bis jetzt sind wir nicht imstande gewesen, Galaktase im reinen Zustande zu isolieren, da die durch die gewöhnlichen Isolierungsmethoden erhaltenen Präparate weniger wirksam waren, als die ursprünglichen Lösungen.

1) Centralbl. f. Bakt. 2. Abt. Bd. III. p. 615 und 14 Rep. Wis. agr. exp. station. 1897. p. 161.

2) Distribution of Galactase in milk of different species of mammalia. (15 Rep. Wis. agr. exp. stat. 1898. p. 93.)

3) Properties of Galactase, a digestive ferment of milk. (15 Rep. Wis. agr. exp. stat. 1898. p. 177.)

Tabelle I. Wirkung von Galaktase-Extrakten auf Milch von verschiedener Reaktion bei verschiedenen Temperaturen:

Serie	Reaktion	Gebrauchter Indikator	Zunahme in Prozenten des ganzen Stickstoffs in löslicher Form in Milch, die 19 Tage lang bei folgenden Temperaturen erhalten wurde ° C.					
			14 °	21 °	28 °	37 °	42 °	52 °
Sauer	0,41 % Milchsäure, neutral mit Lakmus	Phenolphthalein,	0,09	0,11	0,12	0,22	0,22	0,11
Alkalisch	0,1 % Milchs., Lakmus schwach alkalisch	Phenolphthalein,	0,12	0,16	0,19	0,23	0,23	—
Kontrolle	gekochte Milch	kein Extrakt	keine Zunahme					

Während die digestive Thätigkeit der Galaktase bei Zimmertemperatur in mäßig alkalischen Lösungen stärker ist als in neutralen oder schwach sauren, ist der Unterschied in der digestiven Kraft weniger bedeutend, wenn sich die Temperatur der Lösung dem Optimum nähert.

Wirkung der Temperatur.

Die Angaben über die Temperatur, bei welcher die Wirkung des Trypsins zerstört wird, stimmen nicht ganz überein.

Duclaux[1]) sagt, dieser Punkt liege zwischen 60° und 70° C, je nach der Natur der Lösung. Loew[2]) setzt die Wärmegrenzen bei 69—70° C an. Hammarsten[3]) findet, daß die Gegenwart von Albumosen und gewissen Ammoniaksalzen es in alkalischen Lösungen schützt, während Howell[4]) die Grenze zwischen 70—80° C angiebt.

Die folgenden Experimente zeigen, daß die Temperatur, welche für Galaktase unterscheidend ist, etwas höher ist, als die obigen Angaben für Trypsin, wenn auch geringe Unterschiede in der Reaktion der Lösungen die Resultate etwas beeinflußt haben mögen.

Tabelle II. Wirkung auf Milch (Säure 0,15 Proz.)[5]) von Galaktase-Extrakten, die auf verschiedene Temperaturen erwärmt sind:

Temperatur, bis zu welcher die Extrakte 10 Minuten lang erwärmt wurden ° C.	Prozente von löslichem Stickstoff nach 53-täg. Inkubation bei 37° C. Anfänglicher löslicher Stickstoff 0,05
78—80	0,05
76	0,05
71	0,12
65	0,20
60	0,20

Aus dem Obigen sieht man, daß die Wärmegrenze der Galaktase, sofern sie durch ihre digestive Wirkung auf Milch ausgedrückt wird, nicht einen bestimmten Punkt einnimmt, sondern daß die Wirksam-

1) Traité de microbiologie, T. II. p. 671.
2) Pflüger's Arch. Bd. XXVII. 1882. p. 203.
3) Lehrb. der physiol. Chemie. p. 264.
4) Howell, Americ. Textbook of Physiol. p. 240.
5) Wenn nicht anders angegeben, bezieht sich die Säure der Milch auf Acidum lacticum, mit Phenolphthalein als Indikator.

keit des Ferments allmählich durch Erhöhung der Temperatur abnimmt und durch 10 Minuten dauernde Einwirkung einer Wärme von 70° C verloren geht. Auch mit Gelatine wurden nach Fermi's[1]) Methode Versuche gemacht.

Lösungen von Galaktase wurden in verschiedenem Grade sauer und alkalisch gemacht und dann 10 Minuten lang auf verschiedene Temperaturen erwärmt. Gleiche Mengen dieser Lösungen wurden auf die Oberfläche von karbolisierter Gelatine (15 Proz.) in Röhren gebracht und 7 Wochen lang beobachtet. Die Resultate waren, wie folgt:

Tabelle III. Wirkung auf Gelatine von Galaktase-Extrakten, die 10 Minuten lang auf verschiedene Temperaturen erwärmt worden waren (Fermi's Probe).

Temperatur ° C.	Chemische Reaktion: alkalisch $\frac{n}{10}$	alkalisch $\frac{n}{20}$	neutral	sauer $\frac{n}{10}$
65	—	—	++	—
70	—	—	—	—
75	—	—	—	—
80	—	—	—	—
Kontrolle	+	++	—	+

\+ Digestion bei Galaktase. ++ Schnelle Digestion. — Keine Digestion.

Die Vergleichung der Digestionsversuche an Milch und Gelatine zeigt, daß Milch das bessere Mittel ist zur Bestimmung der proteolytischen Wirkung dieses Ferments. Die Resultate stimmen für beide Mittel überein, indem sie zeigen, daß die neutrale oder schwach alkalische Reaktion die günstigste ist.

Die Zersetzung von H_2O_2 wird oft als Probe für das Vorhandensein nicht organisierter Fermente benutzt[2]). Unsere Erfahrung hat gezeigt, daß Milch und Milchprodukte dieses Reagens schnell zersetzen. Diese Reaktion wurde benutzt von Storch[3]) bei der kürzlich von ihm vorgeschlagenen Methode, um zu untersuchen, ob Milch auf 80° C erwärmt worden ist, wie es von dem dänischen Gesetze zur Beschränkung der Tuberkulose durch infizierte Milch vorgeschrieben wird. Storch's Probe wird gemacht, indem man der Milch eine geringe Menge einer Lösung von KI und Stärke hinzufügt, oder noch besser von Paraphenylendiamin und dann einige Tropfen von H_2O_2. Wenn dies letztere Reagens zersetzt wird, erscheint sogleich Blaufärbung durch die Wirkung des frei gewordenen Jods. Diese Zersetzung ist nach Storch's Meinung der Gegenwart von Galaktase[4]) zuzuschreiben, welche nach seiner Meinung durch Erwärmung auf 80° C unwirksam wird.

1) Arch. f. Hyg. Bd. XIV. 1892. p. 19.
2) Flügge, Die Mikroorganismen. Bd. I. p. 213.
3) 40. Bericht f. d. kgl. Lab. für Land. 1898.
4) l. c. p. 42.

Wirkung der chemischen Reaktion auf die Wärmegrenzen der Wirksamkeit.

Um die Wirksamkeit des Galaktaseextrakts nach Storch's Methode zu erproben, wurde eine Reihe von Versuchen mit denselben Lösungen gemacht, die bei den vorhergehenden Gelatineversuchen gebraucht worden waren.

Tabelle IV. Wirkung von erwärmten Galaktaselösungen mit Storch's Probe:

Temperatur der erwärmten Probe	Dauer der Erwärmung (Minuten)	Alkalisch $\frac{n}{10}$	Alkalisch $\frac{n}{25}$	Neutral für Lakmus	Sauer $\frac{n}{10}$
65	10	+	+	+	+
	30	+	+	+	+
	60	+	+	+	≠
70	10	+	+	+	+
	30	+	+	+	≠
	60	+	+	+	—
75	10	+	+	+	≠
	30	+	+	+	—
	60	+	+	+	—
80	10	+	+	+	—
	30	+	+	≠	—
	60	≠	—	—	—

+ Farbenreaktion. — Keine Farbenreaktion. ≠ Zweifelhafte Reaktion.

Der Einfluß der chemischen Reaktion der Galaktase enthaltenden Lösung ist in der obigen Tabelle deutlich sichtbar. In der neutralen und alkalischen Reihe wurde das H_2O_2 in allen Fällen zersetzt, in denen die Temperatur 60 Minuten lang nicht über 75° und 10 Minuten lang nicht über 80° betrug. Diese Wärmegrenze für die Wirksamkeit der Galaktase-Extrakte, mit Storch's Probe gemessen, ist etwas höher als die von ihm in normaler Milch gefundene (l. c. p. 42), aber es ist zu bemerken, daß die Menge der Galaktase bei unseren Versuchen bei weitem größer war, als die normaler Weise in der Milch vorhandene. Dies kann die höhere Temperaturgrenze erklären; auch eine Verschiedenheit der chemischen Reaktion kann sie beeinflußt haben.

Aus den vorhergehenden Angaben folgt, daß die H_2O_2-Probe ein empfindlicheres Maß für die Wärmegrenzen der Wirksamkeit der Galaktase ist, als das durch Digestionsversuche an Milch oder Gelatine erhaltene.

Bei unseren Versuchen mit H_2O_2 an käuflichem Trypsin erhielten wir keine deutliche Reaktion.

Eine Wiederholung der Wärmegrenzen der Wirksamkeit der Galaktase, wie sie mit den angegebenen, unabhängigen Methoden erprobt wird, ist beträchtlichen Abwechselungen unterworfen.

Bei Bestimmung durch das Maß der Digestion in frischer Milch, deren Säure 0,15 Proz. Milchsäure betrug, wurde Verzögerung der Digestion beobachtet, wenn die Galaktase 10 Minuten lang 71° ausgesetzt worden war, und gänzliches Aufhören trat bei 76° ein. Bei

Digestionsversuchen mit Gelatine, wenn der Umfang der Reaktion von $\frac{n}{10}$ Alkali bis $\frac{n}{10}$ Säure betrug, trat keine Digestion ein, wenn die Galaktase 10 Minuten lang auf 65° C erwärmt wurde.

Nach der Bestimmung von Storch's Probe liegen die Wärmegrenzen der Galaktase viel höher, indem eine 10 Minuten lange Erwärmung auf 80° in $\frac{n}{10}$ Säure, oder eine 60 Minuten lange in $\frac{n}{10}$ Alkali nötig sind, um ihre Wirksamkeit zu zerstören. Bei der Probe durch H_2O_2 hob vermehrte Alkalinität innerhalb der gebrauchten Grenzen die Wärmegrenze. Bei den Digestionsversuchen mit Gelatine war das Maß der Digestion geringer in der stärkeren alkalischen Lösung $\frac{n}{10}$, als in der $\frac{n}{20}$ Lösung.

Diese Untersuchung zeigt, daß große Aehnlichkeiten bestehen zwischen Galaktase und dem Ferment des Pankreas, dem Trypsin, deren auffallendste die erhöhte Wirksamkeit in neutralen oder schwach alkalischen Lösungen ist. Die Vergleichung der Wirkungen anderer Einflüsse der Umgebung beweist, daß einige Unterschiede vorhanden sind, besonders in Bezug auf die Wärmegrenzen der beiden Fermente; aber zugleich ist die Variation innerhalb dieser Wärmegrenze für Galaktase, wenn sie unter verschiedenen Umständen untersucht wird, größer als ihr Unterschied von Trypsin, und macht es so unmöglich, die beiden Enzyme durch dieses Mittel mit Bestimmtheit zu unterscheiden.

Dieses unbestimmte Resultat machte eine weitere Untersuchung von einem ganz verschiedenen Gesichtspunkte aus nötig und brachte uns auf den Gedanken, ob es nicht möglich sein könnte, diese beiden Fermente genauer durch ihre Zersetzungsprodukte zu unterscheiden. Um dieses Studium so umfassend als möglich zu machen, wurden nicht nur mehrere Repräsentanten des Trypsintypus der Enzyme benutzt, sondern auch andere Fermente, wie Pepsin, Rennin und Reinkulturen verschiedener Arten von Bakterien wurden angewendet, mit Einschluß derjenigen, die fähig sind, Proteide zu verdauen, die sogenannten digerierenden Bakterien (die Tyrothrix-Gruppe von Duclaux), und die, welche Säuren zu bilden und gasförmige Nebenprodukte aus den Kohlehydraten zu entwickeln vermögen. Einige von diesen Klassen wurden aus besonderen Gründen gewählt. So sind z. B. die Digestionsbakterien nach Duclaux die Hauptfaktoren beim Reifen des Käses, während nach Freudenreich die Milchsäuregruppe als das bei diesen Veränderungen wirksame Agens betrachtet wird. Es wird daher von bedeutender Wichtigkeit sein, die Zersetzungsprodukte dieser verschiedenen Typen von Fermenten von dem Gesichtspunkte der Beziehung aus zu betrachten, in welcher sie zu den bestehenden Theorieen des Reifens des Käses stehen.

(Fortsetzung folgt.)

Nachdruck verboten.

Assimilieren die Alinitbakterien den Luftstickstoff?

Von Dr. Julius Stoklasa,
Professor an der k. k. technischen Hochschule und Leiter der landwirtschaftlich-physiologischen Versuchsstation in Prag.

(Schluß [1].)

Die Algen im Boden sind aber für die Vitalgänge der Mikroben noch von weiterer Bedeutung. Die grünen Algen führen den Mikroben den Sauerstoff zu und sind auf diese Weise den ausschließlichen Aërobiern, wie dem Bacillus megatherium, bei den Assimilations- und Dissimilationsprozessen behilflich. — Eine interessante Beziehung zwischen der Verbreitung der Algen und der Bakterien findet man auch bei einzelnen Kulturen; so z. B. enthält die obere Bodenschicht mit verschiedenen saftgrünen Algengattungen in 1 g Boden 5800000 vegetative Keime von Bakterien, während in dem an Algen armen Boden nur 120000 vegetative Keime in 1 g konstatiert werden konnten. In ersterem Falle war der Boden mit Luzernklee, im zweiten mit Gerste bebaut.

Es haben bereits Schloesing und Laurent bewiesen, daß in Böden, wo eine üppige Algenvegetation stattfindet, die Bakterien den Luftstickstoff festhalten; in der jüngeren Zeit haben namentlich Kossowitsch und Bouilhac die Richtigkeit dieser Behauptung auch auf experimentellem Wege nachgewiesen. So z. B. hat Bouilhac gefunden (Compt. rend. T. CXXIII. 1896. p. 828), daß Nostoc punctiforme infolge Einwirkung der Bakterien gut gedeiht und der Luftstickstoff von den Bakterien auch merklich fixiert wird.

Aus unseren physiologischen Versuchen geht klar hervor, daß sich die Alinitbakterien bei Gegenwart von Algen ungemein üppig vermehren und den Luftstickstoff assimilieren.

Ich habe diese Versuche mit Hilfe derselben Apparate, jedoch von kleinerem Umfange, ausgeführt, die ich bereits in meinen „Biologischen Studien über Alinit" beschrieben habe und zwar wurden Erlenmeyer'sche Kolben von ca. 500 ccm Fassungsraum angewendet; den kleineren Kolben entsprachen auch die Dimensionen der Kugelapparate C und E auf den beiden Seiten, die mit konzentrierter Schwefelsäure gefüllt waren, und der Kolben W mit sterilisiertem Wasser behufs Erhaltung der Feuchtigkeit in dem Vegetationskolben A. Die keimfreie Luft wurde ebenfalls durch den Cylinder S_1 zugeführt, während der Cylinder S_2 mit dem Aspirator verbunden war.

Ich will auf die Besprechung aller dieser Versuche auf dieser Stelle nicht näher eingehen, da die betreffende Arbeit demnächst in Druck erscheinen wird, und bemerke hier nur, daß bei Gegenwart von Algen und zwar der Spezien Stichococcus und Nostoc die Alinitbakterien thatsächlich den Luftstickstoff viel bedeutender fixiert haben als bei Nichtvorhandensein derselben.

---

1) Anfang s. Bd. V. p. 350.

Es ist überhaupt klar, daß die Entwickelung und die Vermehrung der Alinitbakterien im Boden von sehr vielen verschiedenen Momenten abhängen, so daß es nicht verwundern darf, wenn die Bodenimpfung mitunter ohne Erfolg bleibt. Wir haben jedoch mit der Bodenimpfung auf unserem Versuchsfelde heuer eine sehr interessante Erfahrung gemacht; jene Parzellen nämlich, welche im vorigen Jahre nach der Infektion bezüglich des Ertrages fast keine bedeutenden Unterschiede von den nicht infizierten Parzellen ausgewiesen hatten, haben heuer bei der Nachzucht einen beträchtlichen Mehrertrag ergeben.

Es waren dies die Versuche mit der Zuckerrübe, zu welcher wir im vorigen Jahre den Boden mit Alinitbakterien infiziert hatten, ohne aber bei der Ernte irgend einen besonderen Effekt konstatieren zu können; ich war daher begierig, zu erfahren, ob die Infektion vielleicht bei der Nachfrucht (Gerste) wirken werde. Zu der Zuckerrübe wurde nur mit Superphosphat und Chlorkalium gedüngt, während zu der Gerste gar keine Düngung mehr stattfand. Das Ergebnis war, daß von den infizierten Parzellen 3288 kg, von den nicht infizierten aber nur 2160 kg Körner pro ha geerntet wurden. Einen gleichen Fall hat übrigens auch der Gutsbesitzer Herr Hamerník in Wiklantic bei Patzau (Böhmen) beobachtet.

Jeder unvoreingenommene Forscher, der sich mit dem Studium des Lebens der Mikroben befaßt hat, muß mir zustimmen, daß wir bis zum heutigen Tage von den Vitalprozessen derselben eigentlich noch sehr wenig wissen und daß es eine ganze Reihe von bisher unbekannten Faktoren giebt, welche auf die physiologischen Funktionen der Bakterien einen bedeutenden Einfluß ausüben. Es ist Thatsache, daß bis heute eine Reihe von Beobachtungen französischer und englischer Forscher bekannt ist, welche zu gleichen Ergebnissen gelangt sind wie der Referent, und wenn einmal die Bodenimpfung mittels Mikroben von Mißerfolg begleitet ist, so darf dieses Problem, welchem bereits Pasteur und Duclaux eine große Zukunft prophezeit haben, nicht gleich a priori verworfen und als absurd hingestellt werden.

Die bisher bekannt gewordenen Fälle, wo das Alinit keinen Erfolg hatte, stehen gar nicht mit einer derart exakten und einwandfreien Ausführung in Verbindung, als daß sie einen Beweis über den absoluten Mißerfolg in der großen landwirtschaftlichen Praxis erbracht hätten. Wer hat z. B. bei einem negativen Ergebnisse der Versuche bewiesen, daß die Alinitbakterien in dem betreffenden Versuchsboden thatsächlich ein für ihre Entwickelung geeignetes Medium gefunden haben? Welcher Versuchsansteller hat sich überzeugt, daß die sogenannten nicht infizierten Vegetationsgefäße oder Parzellen im Freien auch nicht, wenn auch unwillkürlich, infiziert wurden, was einen gleichen Ertrag aus dem infizierten wie auch aus dem nicht infizierten Boden zur Folge haben könnte, wie es auch bei uns in vielen Fällen geschehen ist? Es fehlt hier absolut an durchaus exakten Forschungen bezüglich der Wirkungen und der Lebens-

prozesse der genannten Bakterien, und solange man nicht auf solche hinweisen kann, so lange darf man sich zu einer a priori-Verurteilung nicht verleiten lassen, wie z. B. die Herren Dr. Gerlach, Dr. Krüger und Dr. Schneidewind, deren Ausführungen ich übrigens demnächst auf das richtige Maß zurückzuführen mir erlauben werde,

Referate.

Emmerling, O., Zur Spaltpilzgärung. (Ber. d. dtsch. chem. Ges. Bd. XXXII. 1899. p. 1915—1918.)

Ueber die Vergärung verschiedener Säuren durch Spaltpilze liegen schon verschiedene Angaben vor (Pasteur, Fitz). Verf. veröffentlicht einige nähere Mitteilungen über die Vergärung der Apfelsäure durch einen von ihm näher bestimmten Spaltpilz, der sich mit Escherich's Bacillus lactis aërogenes identifizieren ließ. Als Gärungsprodukte entstehen neben Kohlensäure vornehmlich Essig- und Bernsteinsäure. Fitz, der ebenfalls die Vergärbarkeit der Apfelsäure studierte, hat als Gärungserreger zuerst Bacillus subtilis angegeben, seine Angabe aber später selbst korrigiert. Eine Verwechslung mit dem vom Verf. bestimmten Bacillus dürfte wohl ausgeschlossen sein.

Den Hefen ist wiederholt schon die Fähigkeit zugeschrieben worden, Apfelsäure in Bernsteinsäure zu vergären. Nach Verf. sind die von den betreffenden Autoren beobachteten Gärungen nicht durch die Sproßpilze, sondern durch die den letzteren beigemengten gärungsfähigen Bakterien verursacht gewesen. Küster (München).

Becker, Ueber Schichtung und Färbbarkeit der Membran der Hefezellen[1]).

Casagrandi fand bei seinen Untersuchungen „Ueber die Morphologie der Blastomyceten“ (dieses Centralbl. 2. Abt. Bd. III. 1897. p. 563; vergl. auch ebenda. Bd. IV. 1898. p. 367) unter anderem, daß „die Membran der Blastomyceten nicht von einer einschichtigen Kapsel, sondern von zwei oder mehr Schichten gebildet wird, die nicht nur bei den alten, sondern auch bei jungen Fermentzellen vorkommen“. Außerdem beobachtete derselbe, daß sich die Membran der Hefezellen durch verschiedene Anilinfarbstoffe färben ließ, und zwar kam er zu dem Schlusse, daß Methylenblau nach Ehrlich und Hanstein'sches Anilin die geeignetsten Farbstoffe seien.

Herr Dr. C. Becker hat auf Veranlassung des Ref. im physiologischen Laboratorium der wissenschaftlichen Station für Brauerei in München diese Angaben nachgeprüft, und benutzte derselbe zu seinen Versuchen in erster Linie Hefen mit dickerer Zellmembran,

1) Nach Mitteilungen der wissenschaftl. Station f. Brauerei in München. (Zeitschr. f. d. ges. Brauwesen. Bd. XXII. 1899. No. 44. p. 597.)

also solche, welche zur Vergärung hochprozentiger Würzen benutzt waren (Salvator- und Bockbierwürzen), daneben aber auch gewöhnliche Betriebshefe.

Nach 14 Tagen konnte bei keiner dieser Hefen Schichtung konstatiert werden, dagegen zeigte die mit 1-proz. Chromsäure behandelte Salvatorhefe nach ca. 3 Wochen bei einzelnen Zellen deutliche Schichtung, ebenso die mit 1-proz. Osmiumsäure behandelte, zwar nicht ganz so deutlich und in etwas weniger zahlreichen Fällen. Die Bockbierhefe verhielt sich ebenso; nur die mit 1-proz. Chromsäure und 1-proz. Osmiumsäure behandelte Hefe zeigte manchmal Schichtung, jedoch konnten in allen Fällen stets nur 2 Schichten unterschieden werden.

Bei der gewöhnlichen Betriebshefe war Schichtung überhaupt nicht nachzuweisen; außerdem wurde in keinem Falle Schichtung bei jüngeren Zellen wahrgenommen.

Casagrandi giebt an, daß man die Schichtung auch in den Fällen sichtbar machen kann, in denen sie auf den ersten Blick nicht vorhanden zu sein scheint, und zwar sowohl bei den ruhenden Zellen, bei welchen die Membran eine gewisse Dicke erlangt, als auch bei jungen Zellen, wo sie außerordentlich dünn ist, wenn man erstere nacheinander mit Alkohol, Aether und Chloroform, Alkohol und Chlorzinkjod behandelt, letztere mit 3-proz. Salzsäure, dann auswäscht und mit Jodgrün und Fuchsin färbt.

Eine von Dr. Becker mit diesen Mitteln behandelte gewöhnliche Betriebshefe gab in keinem Falle ein Resultat.

Es ist also wahrscheinlich, daß die Membran der Hefezellen für gewöhnlich nicht geschichtet ist, sondern daß eine Schichtung nur im Falle eines Dickenwachstums derselben erfolgt, wie es bei der Ausbildung der Dauerzellen und bei Hefen, die hochprozentige Würzen vergoren haben, der Fall ist.

Im Gegensatz zu Casagrandi bekam Dr. Becker in keinem Falle direkt Färbung der Membran. Die Hefen wurden in einem Zustande verwendet, wo der Inhalt sich vollständig zusammengezogen hatte und die Membran ganz frei lag (durch Autophagie); nebenher wurden jedoch auch sämtliche Versuche mit frischen Bierhefen angestellt.

Die Färbungsversuche wurden nach Casagrandi's Angaben folgendermaßen angestellt: Die Hefen wurden 3 Tage lang zum Teil mit 2-proz. Essigsäure, zum Teil mit 4-proz. Salzsäure behandelt; dann wurde die Säure vorsichtig ausgewaschen, bis sich blaues Lackmuspapier nicht mehr rötete, dann wurden sie einesteils mit Methylenblau nach Ehrlich, anderenteils mit Hanstein'schem Anilin versetzt, einmal aufgekocht und absetzen gelassen.

Im Gegensatz zu Casagrandi wurde in keinem Falle direkt Färbung der Membran, auch nach Tagen nicht, erhalten. Nach ca. 3 Wochen erhielt jedoch Dr. Becker mit Hanstein'schem Anilin in beiden Versuchsreihen teils mehr, teils weniger deutliche Färbung der Membran. Um konstatieren zu können, daß thatsächlich die Membran gefärbt war und nicht eine Täuschung vorlag, die dadurch hervorgerufen werden konnte, daß die Hefezellen, in der Farbflüssig-

keit liegend, eine leicht gefärbte Membran zu haben schienen, wurde stets die Farbe abgesaugt und ließ man dann vorsichtig einen Tropfen Wasser nachfließen. Die Membran blieb unter diesen Umständen in den Fällen, in welchen eine Färbung eingetreten war, gefärbt. Bemerkenswert war, daß der Farbstoff durch mehrmaliges Zufließenlassen und Absaugen von Wasser leicht abwaschbar war, leichter noch mit verdünntem Alkohol, der ihn augenblicklich entfernte.

Mit Methylenblau konnte in keiner Weise, auch nach mehrmonatlicher Behandlung nicht, eine Färbung der Membran der Hefezellen erzielt werden.

Bis jetzt ist eine Färbung der Membran der Hefezelle nur nach längerer Behandlung mit Hanstein'schem Anilin und vorhergegangener Einwirkung ziemlich verdünnter (ca. 4-proz.) Salzsäure möglich.

Also auch hier haben sich Abweichungen von den Angaben Casagrandi's ergeben. Möglicherweise vermeinte derselbe dort eine Membranfärbung zu sehen, wo sich die Membran deutlicher vom Zellinhalt abhob und, in der Farbflüssigkeit liegend, selbst gefärbt erschien. H. Will (München).

Epstein, Stanislaus, Untersuchungen über die Borscht oder Barszcz genannte Gärung der roten Rüben. (Archiv für Hygiene. Bd. XXXVI. Heft 2. p. 145—157.)

Unter den in Rußland als Volksnahrung üblichen Gärungsprodukten befindet sich auch ein solches aus roten Rüben. Die Zubereitung ist bei diesem, wie bei allen übrigen, eine äußerst primitive. Rote Rüben werden in Stücke geschnitten, mit dem doppelten Volumen Wasser übergossen und 8 Tage sich selbst überlassen. In den meisten Fällen wird dadurch ein aromatisches, wohlschmeckendes Gericht erhalten, manchmal tritt jedoch auch Fäulnis ein, die das Gericht ungenießbar macht.

Eine Untersuchung des Rübensaftes, der aus Rüben und Wasser durch freiwillige Gärung in 8 Tagen gewonnen war, zeigte eine Acidität von 0,612 Proz. auf Milchsäure berechnet, 7 Proz. davon wurden als flüchtige Säuren ermittelt, deren wesentlichster Bestandteil Essigsäure war. Buttersäure war gar nicht, Ameisensäure nur in geringen Mengen gebildet worden. Von der nicht flüchtigen Säure wurde ein Teil als Milchsäure nachgewiesen.

Die bakteriologische Untersuchung zeigte, daß anfänglich verschiedene Organismen wucherten, unter denen sowohl verflüssigende Arten aus der Gruppe des B. subtilis wie auch andere nicht säurebildende und nicht verflüssigende Formen sich befanden, bald aber nahmen die Säurebildner zu, bis sie nach etwa 8 Tagen weitaus die Hauptzahl aller Organismen ausmachten. Von diesen unterscheidet E. 3 Arten, die er mit x, y und z bezeichnet, leider aber nicht ausführlich beschreibt.

Uebertragungsversuche mit den 3 Organismen, welche mit steril präparierten Rüben in sterilem Wasser, mit durch Thonfilter keimfrei gemachten und mit sterilisiertem Preßsafte angestellt wurden, zeigten denselben Verlauf, wie die Rohsäuerung. Wieder war nach

8 Tagen das Säuremaximum erreicht, Milchsäure und Essigsäure gebildet und das Produkt zeichnete sich durch angenehmen Geschmack aus. Versuche, die mit Nährbouillon und Zucker gemacht wurden, zeigten, daß x aus Rohrzucker 8, aus Traubenzucker 7, aus Milchzucker 7; y aus allen 3 Zuckerarten annähernd 5,2 und z etwa 6,1 Säure aus Rohr- und Traubenzucker abzuspalten vermochten; Milchzucker wurde von letzteren nicht angegriffen. Bei Luftabschluß wurde durchweg weniger Säure gebildet als bei Luftzutritt.

Es erscheint nach dieser Arbeit erwiesen, daß bei dem Barszcz die Säuregärung in gleicher Weise durch verschiedene Organismen eingeleitet werden kann. Appel (Charlottenburg).

Epstein, Stanislaus, Untersuchungen über das Dunkelwerden der Zuckerrübensäfte. (Archiv für Hygiene. Bd. XXXVI. Heft 2. p. 140—144.)

Es ist allgemein bekannt, daß Rübensaft, ebenso wie der Saft von Kartoffeln, Aepfeln etc. nach kurzem Stehen dunkel wird. Als Ursache dieser Erscheinung hat man verschiedene Faktoren angesehen, nämlich Bakterien, Oxydation durch den Sauerstoff der Luft, Oxydation durch Vermittelung von oxydierenden Enzymen. In verhältnismäßig einfacher Weise hat Verf. diese Frage nunmehr gelöst.

Vermischt man den frischen Rübensaft mit Aether, Chloroform oder Alkohol, so wird ein Bakterienwachstum hintangehalten. Die Farbenänderung tritt jedoch fast augenblicklich ein. Uebrigens macht schon die Schnelligkeit, mit welcher normalerweise der Farbenumschlag erfolgt, eine Bakterieneinwirkung unwahrscheinlich. Weiter preßte Verf. den Rübensaft in ein Kölbchen mit Oel, so daß ein fast völliger Luftabschluß erreicht wurde; eine Verfärbung trat nicht ein, also ist die Luft an der Oxydationserscheinung beteiligt.

Es fragte sich nun noch, ob die Oxydation direkt oder vermittelst einer Oxydase vor sich geht. Setzt man dem frisch gepreßten Rübensafte Blausäure zu, so tritt keine Verfärbung ein, doch ist dies sofort der Fall, wenn man die Blausäure durch Durchleiten von Luft wieder austreibt. Endlich beschickte der Verf. auch noch je ein Gärkölbchen mit frischem und gekochtem Rübensaft, dem in beiden Fällen Wasserstoffsuperoxyd zugesetzt war. Das Kölbchen, in dem sich der nicht sterilisierte Saft befand, zeigte Gasbildung, das andere nicht. Ein Enzym ist also vorhanden.

Leider gelang es Verf. nicht, das Enzym näher zu charakterisieren, da die Versuche, es zu isolieren, nicht gelangen. Sicher ist jedoch, daß es nicht mit dem Tyrosin identisch ist, da sowohl die wässerige Lösung des reinen Tyrosins, wie seines Natriumsalzes eine Einwirkung auf den Rübensaft nicht hatte.

Appel (Charlottenburg).

Koning, C. J., Die Flecken- oder Mosaikkrankheit des holländischen Tabaks. (Zeitschr. f. Pflanzenkrankh. 1899. p. 65. Mit Taf. II.)

In fast allen tabakbauenden Ländern tritt auf der Tabakpflanze eine Blattkrankheit auf, die als „Flecken- oder Mosaikkrankheit“

gefürchtet wird. Die Ursache der Erkrankung wird von den Züchtern in allerhand äußeren Verhältnissen gesucht, ohne daß es bisher möglich war, wirksame Verhütungsmaßregeln zu treffen.

Aus einigen Vorversuchen folgerte Verf. die starke Infektiosität der Krankheit. Wurde in einen Blattnerven ein Stück erkranktes Gewebe geimpft oder Saft von krankem Gewebe auf die Erde bei gesunden Pflanzen gebracht oder endlich eine Wundfläche mit den Fingern, zwischen denen erkranktes Gewebe zerrieben war, berührt, so wurde ausnahmslos eine Infektion erzielt. Zur Infektion durch Saft genügte eine minimale Menge.

Wurden die Blattflecken anatomisch untersucht, so zeigten sich bei jüngeren Stadien nur unwesentliche Veränderungen gegenüber dem normalen Zustande. Man trifft zwischen den Zellen dunkelblaugrün aussehende Streifen, sowie Bläschen an, die wie Luftblasen aussehen. Später zeigen sich die Chlorophyllkörner desorganisiert und die Zellwände der inneren Gewebe sind verschwunden. Aber selbst mit der stärksten Vergrößerung ist an keiner Stelle des erkrankten Blattes ein Mikroorganismus zu sehen. Ferner wurden von der Epidermis, den Wurzeln u. s. w. Kulturen auf den verschiedensten Nährböden angelegt. Es traten nur gutartige Organismen auf, aber keine, die die Krankheit wieder zu erzeugen imstande waren.

Die Thatsache nun, daß der Giftstoff, von einer Pflanze auf die andere in minimalen Mengen übertragen, sich als wirksam erwies, legte trotz der negativen Resultate der Kulturen die Vermutung nahe, daß ein Mikroorganismus im Spiel sei. Zum Beweise hierfür stellte der Verf. 21 Versuchsreihen an, auf die hier nicht näher einzugehen ist. Sie ergaben entweder ganz negative Resultate, oder das untrügliche Resultat, daß nur ein Mikroorganismus der Erreger sein kann. Derselbe muß aber so klein sein, daß er mit unseren jetzigen Hilfsmitteln nicht zu sehen ist. Er würde in dieser Hinsicht mit den Erregern der Hundswut und Maul- und Klauenseuche gleichzustellen sein.

Der letzte Teil der Arbeit ist prophylaktischen Versuchen gewidmet. Verf. versuchte durch Düngung die Infektion zu verhüten, den Infektionsstoff also schon im Boden zu vernichten. Dabei zeigte sich, daß die Düngung mit Kainit und Thomasphosphat eine vorzügliche Wirkung ausübt, ebenso wie Dungstoffe, denen Heiderasen beigemengt war. Als Dungstoffe kommen am zweckmäßigsten Kompostfäkalien und Peruguano zur Anwendung. Auch das Aufstreuen von ungelöschtem Kalk giebt gute Resultate. Vor allen Dingen muß aber bei dem Abbrechen der Blätter vorsichtig verfahren werden. Da die Krankheit durch die Finger übertragen wird, so müssen zweckmäßig zuerst alle kranken Pflanzen behandelt werden und dann nach Sterilisierung der Finger erst die gesunden. Lindau (Berlin).

Entwickelungshemmung und Vernichtung der Bakterien etc.

Kornauth, Untersuchungen über das „Sanatol". (Zeitschr. f. d. landw. Versuchswesen in Oesterreich. Jahrg. II. 1899. p. 543—559.)

Das Sanatol ist eine Desinfektionsflüssigkeit, die nach der Analyse Professor Gruber's aus 9,21 Proz. freier Schwefelsäure und 27—29 Proz. Phenolsulfosäure besteht. Es eignet sich besonders für „grobe Desinfektion", aber nicht für „die feinere Desinfektionspraxis". Hierunter versteht Verf. eine solche, wo der starke Teergeruch und der Gehalt an freier Säure unangenehm wirken könnte. Verf. hat die Wirkung des Sanatols auf Staphylococcus aureus, Typhusbacillen, Milzbrandbacillen, Vibrio Finkler-Prior, Sputum mit Tuberkelbakterien, auf faulende Bouillon, die Ammoniakgärung des Harns, eiterbeschmutzte Lappen und die Konservierung des Stallmistes untersucht. Durchgehends zeigt das Sanatol eine gute Desinfektions- und Desodorisierungsfähigkeit; für die Desinfektion des Sputums bietet es den Vorteil, daß es mit den Eiweißkörpern unlösliche Verbindungen nicht bildet.

Für die Konservierung des Stickstoffgehaltes im Stallmist hat das Sanatol sich jedoch lange nicht so gut bewährt wie Schwefelsäure. Wenn der Verf. bei diesen Versuchen den Stickstoffverlust auf die Wirksamkeit der Denitrifikationsbakterien zurückführt, dürfte er eigentlich erst den bis jetzt fehlenden Beweis für eine Denitrifikation in einem Misthaufen führen. Denitrifikation kann eo ipso nur stattfinden, wenn Salpeter vorhanden ist, und nach den Untersuchungen von Winogradsky und Omeliansky dürfte es mehr als zweifelhaft sein, ob eine Salpeterbildung sich an solchen Stellen vollzieht. Der Stickstoffverlust bei den ausgeführten Versuchen dürfte vielmehr von einer Ammoniakbildung herrühren. Die Nichtübereinstimmung zwischen den Versuchen mit Rinderkot und Pferdemist ließe sich auch vielleicht leichter erklären, wenn Verf. nicht seine Aufmerksamkeit ausschließlich auf die Denitrifikationsbakterien gerichtet hätte. Bei den Pferdemistversuchen findet er nämlich, bei Anwendung von Ferrisulfat und Bisulfat als Desinfektionsmittel, während der ganzen Versuchsdauer lebende Denitrifikationsbakterien, trotzdem bei diesen Zusätzen nur ein minimaler Stickstoffverlust stattfand.

Die Beschreibung der Methodik läßt hier und da etwas zu wünschen übrig. So hat der Verf. z. B. nicht angegeben, auf welche Weise er die bakteriologischen Prüfungen vorgenommen hat. Es wäre auch angenehm, wenn der Verf. angegeben hätte, wo die Methode Yersin beschrieben ist, da man wohl nicht voraussetzen kann, daß dieselbe jedem Leser bekannt sei.

Nach dem Verf. ist Sanatol ein Desinfektionsmittel, das wohl wert ist, die Aufmerksamkeit der Praktiker, Tierärzte, Landwirte u. A. auf sich zu ziehen. Hj. Jensen (Karlsruhe).

Neue Litteratur,

zusammengestellt von
San.-Rat Dr. ARTHUR WÜRZBURG,
Bibliothekar im Kaiserl. Gesundheitsamte in Berlin.

Allgemeines über Bakterien und Parasiten.

Abel, R., Taschenbuch für den bakteriologischen Praktikanten, enth. die wichtigsten technischen Detailvorschriften zur bakteriologischen Laboratoriumsarbeit. 5. Aufl. 12°. VIII, 106 p. Würzburg (A. Stuber) 1899. 2 M.

Migula, W., System der Bakterien. Handbuch der Morphologie, Entwickelungsgeschichte und Systematik der Bakterien. 2. Bd. Spezielle Systematik der Bakterien. gr. 8°. X, 1068 p. m. 35 Abbildgn., 18 Taf. u. 18 Bl. Erklärgn. Jena (G. Fischer) 1899. 30 M.

Waite, H. H., Current bacteriological literature. (Journ. of applied microsc. Vol. II. 1899. No. 9. p. 519—524.)

Untersuchungsmethoden, Instrumente etc.

Alleger, W. W., Filling fermentation tubes. (Journ. of applied microsc. Vol. II. 1899. No. 9. p. 496.)

Ampola, G. ed Ulpiani, C., Per la tecnica delle colture anerobiche. (Riv. d'igiene e san. pubbl. 1899. No. 23. p. 907—913.)

Cesaris-Demel, A., Ueber das verschiedene Verhalten einiger Mikroorganismen in einem gefärbten Nährmittel. (Centralbl. f. Bakteriol. etc. I. Abt. Bd. XXVI. 1899. No. 18/19. p. 529—540.)

Chamberlain, Ch. J., A new staining dish. (Journ. of applied microsc. Vol. II. 1899. No. 8. p. 467—468.)

Lašek, F., O ceně methody Gramovy a jejich modifikacích jako prostředku k differencování jednotlivých mikrobů. (Note sur la valeur de la méthode de Gram.) Sborník klin. etc. (Arch. bohèm. de méd. clinique.) T. I. 1899. Fasc. 4. p. 318—328.

Systematik, Morphologie und Biologie.

Alleger, W. W., Growing anaerobes in air. (Journ. of applied microsc. Vol. II. 1899. No. 9. p. 511.)

Bäumler, J. A., Mykologische Fragmente. Fungi novi Herbarii Musei Palatini Vindobonensis. (Aus: Annalen d. k. k. natur-histor. Hofmuseums.) Lex.-8°. 6 p. m. 1 Taf. Wien (Alfred Hölder) 1899. 1,40 M.

Bellot des Minières, A., La cochylis. Causes des variations dans la durée des pontes et causes de la prolification plus ou moins grande de l'insecte. (Vigne franç. 1899. No. 17. p. 262—263.)

Binaghi, R., Azione dei grassi animali e vegetali sui microrganismi patogeni. (Riforma med. 1899. No. 255, 256. p. 351—353, 363—365.)

Brandes, G., Teratologische Cestoden. (Ztschr. f. Naturwissensch. Bd. LXXII. 1899. Heft 1/2. p. 105—110.)

Braun, M., Weitere Mitteilungen über endoparasitische Trematoden der Chelonier. (Centralbl. f. Bakteriol. etc. I. Abt. Bd. XXVI. 1899. No. 20/21. p. 627—632.)

— —, Ueber Distomum cucumerinum Rud. (Zoolog. Anzeiger. 1899. No. 602. p. 465—468.)

Bubák, F., Resultate der mykologischen Durchforschung Böhmens im J. 1898. (Aus: Sitzungsber. d. böhm. Gesellsch. d. Wiss.) gr. 8°. 25 p. Prag (in Komm. Fr. Řivnáč) 1899. 0,40 M.

Caullery, M. et Mesnil, F., Sur la morphologie et l'évolution sexuelle d'un Epicaride parasite des balanes (Hemioniscus balani Buchholz). (Compt. rend. de l'acad. d. scienc. T. CXXIX. 1899. No. 20. p. 770—773.)

Eggers, H., Zur Lebensweise des Xyleborus cryptographus Rátz. (Illustr. Ztschr. f. Entomol. 1899. No. 19. p. 291—292.)

Fuhrmann, O., Mitteilungen über Vogeltänien. II. Zwei eigentümliche Vogeltänien. [Vorl. Mitteil.] (Centralbl. f. Bakteriol. etc. I. Abt. Bd. XXVI. 1899. No. 20/21. p. 618—622.) — III. Taenia musculosa Fuhrm. und T. crateriformis Goeze (Monopylidium nov. gen.) (Ibid. p. 622—627.)

Guéguen, F., Sur une nouvelle espèce de Sterigmatocystis. (Bullet. de la soc. mycol. de France. 1899. p. 171.)

Hagenmüller, P., Bibliotheca sporozoologica. Bibliographie générale et spéciale des travaux concernant les sporozoaires parus antérieurement au 1. janvier 1899. 233 p. Marseille 1899.

Haury, A., Die Schimmelpilze und ihre industrielle Anwendung. (Oesterr. Chemiker-Ztg. 1899. No. 23. p. 605—611.)

Ludwig, F., Der Moschuspilz, ein regulärer Bestandteil des Limnoplanktons. (Forschungsber. a. d. biolog. Station zu Plön von O. Zacharias. Teil 7. p. 59—63.) Stuttgart (Nägele) 1899.

Lutz, L., Nouvelles recherches sur le Tibi. (Bullet. de la soc. mycol. de France. 1899. p. 157.)

Matruchot, L., Notes mycologiques. (Bullet. de la soc. mycol. de France. 1899. p. 254.)

Michaëlis, G., Beiträge zur Kenntnis der thermophilen Bakterien. (Arch. f. Hygiene. Bd. XXXVI. 1899. Heft 3. p. 285—293.)

Prowazek, S., Protozoenstudien. (Arb. d. zoolog. Inst. in Wien. T. XI. 1899. Heft 3. p. 195—268.)

Sabrazès et **Brengues**, Agglutinines chimiques. (Compt. rend. de la soc. de biol. 1899. No. 35. p. 930—931.)

Shirai, M., On the genetic connection between Peridermium giganteum (Mayr) Tubeuf and Cronartium quercuum (Cook) Miyabe. (Botan. magaz. Tokyo. 1899. No. 13. p. 74—79.)

Tietze, G., Häufige Fehler bei der Hefebereitung. (Ztschr. f. Spiritusindustrie. 1899. No. 48. p. 442.)

Wolffhügel, K., Rechtfertigung gegenüber Cohn's Publikation „Zur Systematik der Vogeltänien". (Centralbl. f. Bakteriol. etc. I. Abt. Bd. XXVI. 1899. No. 20/21. p. 632—635.)

Beziehungen der Bakterien und Parasiten zur unbelebten Natur.

Luft und Wasser.

Abba, F., Sulle pessime condizioni batteriologiche dell' acqua benedetta nelle chiese. (Riv. d' igiene e san. pubbl. 1899. No. 22. p. 879—885.)

Dove, R. A., An investigation into the bacteriology (aërobic) of the air as found in schools. (Brit. med. Journ. 1899. No. 2018. p. 599—602.)

Pellegrini, P., Sulla genesi dei tubercoli ferruginosi delle condutture. (Riv. d' igiene e san. pubbl. 1899. No. 8. p. 348—354.)

Boden.

Wolf, K., Denitrifikation und Gärung. (Hygien. Rundschau. 1899. No. 23. p. 1169—1172.)

Nahrungs- und Genußmittel, Gebrauchsgegenstände.

Fleisch.

Böhm, J., Fütterungsversuche mit amerikanischem trichinösem Schweinefleisch. (Ztschr. f. Fleisch- u. Milchhygiene. 1899/1900. Heft 3. p. 41—42.)

Macdonald, J., Inspection of meat and dairies. (Sanit. Journ., Glasgow 1899. Nov. p. 464—469.)

Reißmüller, Die Fleischschaugesetze und -Vorschriften nebst dem Schlachtviehversicherungsgesetze im Königreich Sachsen. Chemnitz 1899.

Milch, Molkerei.

Arnold, L. R., Contribution à l'étude des laits fermentés. Le Leben. [Thèse.] 8°. 44 p. Montpellier (Impr. de la manufact. de la Charité) 1899.

Weißenfeld, Ueber Bakterien in der Butter und einigen anderen Milchprodukten. (Berl. klin. Wchschr. 1899. No. 48. p. 1053—1055.)

Wohnungen, Abfallstoffe etc.

Desinfektionsversuche mit Formaldehyd, im Auftrage des schweizerischen Gesundheitsamtes ausgeführt vom bakteriologischen Institut in Bern. (Sanitar.-demogr. Wchbull. d. Schweiz. 1899. No. 43—45. p. 667—672, 682—686, 697—702.)

Walther, R. u. Schloßmann, A., Ueber „neue" Verwendungsarten des Formaldehyds zu Zwecken der Wohnungsdesinfektion. (Münch. med. Wchschr. 1899. No. 46, 47. p. 1535—1537, 1567—1569.)

Beziehungen der Bakterien und Parasiten zu Pflanzen.

Krankheitserregende Bakterien und Parasiten.

Deville, J., Le black-rot dans le Rhône. (Rev. de viticult. 1899. No. 303. p. 418—420.)

Eriksson, M. J., Nouvelles études sur la rouille brune des céréales. (Annal. d. scienc. natur. 1899. No. 9. p. 241—255.)

Howard, L. O., Additional observations on the parasites of Orgyia leucostigma. (28. ann. rep. of the entomol. soc. of Ontario. 1897/1898. p. 87—89.)

Lamb, F. H., Root suckers on Douglas fir. (Botan. Gaz. Vol. XXVIII. 1899. No. 1. p. 69—70.)

Mangin, L., Sur la maladie du pied de blé. (Bullet. de la soc. mycol. de France. 1899. p. 210.)

Martini, S., Ancora sul sistema insettifugo contro la tignuola dell' uva (Cochylis ambiguella). (Bollett. d. entomol. agrar. 1898. No. 9. p. 139—140.)

Pynaert, L., Les maladies de la canne à sucre à Java. (Belgique colon. 1899. p. 209—211.)

Radais, M.. On the blight of sorghum. (Botan. Gaz. Vol. XXVIII. 1899. No. 1. p. 65—68.)

Ráthay, E., Ueber eine Bakteriose von Dactylis glomerata L. (Aus: Sitzungsber. d. k. Akad. d. Wiss.) gr. 8°. 6 p. Wien (Carl Gerold's Sohn) 1899. 0,10 M.

Reh, L., Schädigung der Landwirtschaft durch Tierfraß im Jahre 1898. (Naturwissensch. Wchschr. 1899. No. 48. p. 561—565.)

Trabut, Une nouvelle cochenille menaçant les orangers et autres plantes à feuilles persistantes (Aspidiotus ficus). (Rev. de viticult. 1899. No. 302. p. 384—387.)

Weifs, Die Fliedermotte, Gracillaria syringella Fabr. (Prakt. Blätter f. Pflanzenschutz. 1899. Heft 10. p. 73.)

— —, Die Wirkungsweise der Kupferpräparate gegen die Pflanzenkrankheiten. (Ibid. p. 76—78.)

Zimmermann, H., Einiges zur Biologie und Bekämpfung der Apfelgespinnstmotte (Hyponomeuta malinella Zell.). (Insekten-Börse. 1899. No. 23. p. 133—134.)

Zukal, H., Untersuchungen über die Rostpilzkrankheiten des Getreides in Oesterreich-Ungarn. I. Reihe. (Aus: Sitzungsber. d. k. Akad. d. Wiss.) gr. 8°. 20 p. Wien (in Komm. Carl Gerold's Sohn) 1899. 0,40 M.

Entwickelungshemmung und Vernichtung der Bakterien.

Koch, E. u. Fuchs, G., Ueber den antibakteriellen Wert des Akroleïn. (Centralbl. f. Bakteriol. etc. I. Abt. Bd. XXVI. 1899. No. 18/19. p. 560—563.)

Inhalt.

Originalmitteilungen.

Referate.

Entwickelungshemmung u. Vernichtung der Bakterien etc.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.

CENTRALBLATT

für

Bakteriologie, Parasitenkunde u. Infektionskrankheiten.

Zweite Abteilung:

Allgemeine, landwirtschaftlich-technologische Bakteriologie, Gärungsphysiologie, Pflanzenpathologie und Pflanzenschutz.

In Verbindung mit

Prof. Dr. **Adametz** in Wien, Prof Dr **M. W. Beijerinck** in Delft, Geh. Regierungsrat Prof. Dr. **A. B. Frank** in Berlin, Dr. **v. Freudenreich** in Bern, Privatdocent Dr. **Lindau** in Berlin, Prof. Dr. **Lindner** in Berlin, Dr. **Morris**, Chef des Hansen-Laboratory, Jenner-Institute of Preventive Medicine in London, Prof. Dr. **Müller-Thurgau** in Wädensweil, Dr. **Erwin F. Smith** in Washington, D. C., U. S. A., Prof. Dr. **Stutzer** in Breslau, Prof. Dr. **Wehmer** in Hannover, Prof. Dr. **Weigmann** in Kiel und Prof. Dr. **Winogradsky** in St. Petersburg

herausgegeben von

Dr. O. Uhlworm in Cassel

und

Prof. Dr. Emil Christian Hansen in Kopenhagen.

Verlag von Gustav Fischer in Jena.

VI. Bd. **Jena**, den 24. Januar 1900. **No. 2.**

Jährlich erscheinen 26 Nummern. Preis für den Band (Jahrgang) 20 Mark. Preis für eine einfache Nummer 75 Pfg., für eine Doppelnummer 1 Mark 50 Pfg. Nummern mit Tafeln kosten für jede Tafel 50 Pfg. mehr.

Hierzu als regelmäfsige Beilage die Inhaltsübersichten der I. Abteilung des Centralblattes.

Wünsche wegen Lieferung von besonderen Abdrücken wollen die Herren Mitarbeiter auf die Manuskripte schreiben oder bei Rücksendung der ersten Korrekturabzüge der Verlagsbuchhandlung mitteilen.

Original-Mitteilungen.

The duration of bacterial existence and trial environments[1]).

By Dr. **Henry L. Bolley**, Fargo, North Dakota.

During the summer of 1890, a number of agar cultures of living germs were sealed in the test tubes in which they were growing. The tubes were simply drawn out and fused together at a point

1) Presented before Section "G" A. A. A. Science Columbus Meeting Aug. 1899.

above the agar slant. The results obtained were so successful for demonstration purposes; and the method was found to be such a satisfactory means of preserving, uncontaminatad, the living cultures for extended periods of time, that the process was continued, new additions of cultures being made to the collection from time to time. During the past five years, many such hermetically sealed agar cultures have been opened as need, and have been found to give in each case a good growth at once. A failure of such sealed cultures to make a growth has been infrequent of occurrance. Such properly sealed cultures have been found to retain their color characteristics and individual germs morphology to a remarkable degree.

For several years many ordinary agar and gelatine cultures of different germs have been allowed to dry up under the atmospheric conditions prevailing in the laboratory. These have been kept, in many cases, along with the normal but sealed cultures. This then, gives an excellent opportunity to test the effect of slow drying of the bacteria upon a moist organic substratum, while, those, which were sealed for a long time upon the fresh agar or gelatine surfaces furnish an opportunity for the consideration of the longevity of germs when kept in a moist condition. With the exception of anaërobic or partially anaërobic germs, it will be noticed that this sealed condition of a culture would not admit of normal growth conditions except for a very short period after the time of sealing.

A number of the germs are those which the author has been interested in during certain studies made upon water, and milk products. These, in most cases, can thus, unfortunately, be given only as per record numbers. Each of these, however, is well known by its described characters, drawings and observations previously recorded. The results with these are for this reason of value in the general consideration of the table of cultures and tests made. The remarkable vitality of the important bacillus of typhoid fever will be of added value, in consideration of its wide natural distribution in water supplies and in consideration of the careless disposal often made of typhoid sewage and slops. Other germs of special interest are: Bacillus amylovorus, Bacillus dianthi, Bacillus coli commune, Bacillus acidi lactici, Bacillus subtilis, Bacillus lactis erythrogenes, Pneumococcus Friedl., Rhizopus nigricans, and Conn's No. 22.

Very naturally there are few general conclusions to be drawn from such work. The table of cultures must stand as the chief substance of this paper. No attempt will here be made to give a resume of the work done by other investigators to determine the longevity of bacteria. As this has been recorded chiefly as separate observations made at the time of special studies upon particular individual species. The listing of such records would not be in special keeping with this paper. It is hoped that investigators working upon germs of specific character may be able to gain some general light upon longevity from the records made in the accompanying table. Among the evident points to be observed in the work one may note in a general way the following: The period of longevity

of air dried, non-spore bearing, germs, is certainly longer than that previously recorded for such bacteria. In some cases there was no growth obtained from air dried cultures when others presumably of very like nature having same type of conditions, were viable. Again, there are similar unexplicable results among the hermetically sealed cultures which remain fresh in appearance and normal as to their individual germ morphology, but failed to give growth, as, for example, No. 27 and No. 48 of the table. Perhaps, differences in strength of culture media or slight variability as to neutrality of the new cultures as compared to the old may explain this lack of growth. As however, among the non spore bearing species resuscitation of the old culture was at first slow, whether inoculated into bouillon or upon agar, it seems probable that some of these cultures though normal in appearance, had actually lost their viability.

Though there were some exceptions, as in the cases of No. 6, No. 24 and No. 25 of the table, non-spore bearing germs fared poorly under the conditions of air drying, while spore bearing types, such as Bacillus subtilis, made quick strong growths from the beginning of the new inoculation. As such cultures were found to consist essentially of spores it is assumed that the early growth was made from the well preserved spores. With regard to this point compare Nos. 1, 9, 10, 11 and 20.

The fact that non-spore bearing bacilli and micrococci may remain in perfect morphological form and character for a number of years upon a wet organic substratum in hermetically sealed tubes seems remarkable, but it is attested by this work in many cases. Compare the various numbers of the table. Sometimes these normally formed germs failed of viability, but, if they were dead, it is all the more remarkable that they had not disintegrated. In line with this last interesting observation, is the record of the non-changing gross characters of cultures, when properly sealed. If a culture of bacteria which has made a good growth either in streak or stab culture upon solid agar or gelatin be hermetically sealed, it soon ceases to make further growth and remains stationery and permanent in characteristics even to the gross form of the growth and its color. This was found to be the case in all tests, but stood out very clear in the case of Bacillus amylovorus No. 28, Bacillus dianthi No. 31, Bacillus coli commune No. 46 and Bacillus lactis erythrogenes No. 43. Under such conditions after the bacteria have used up the ordinary amount of oxygen within the sealed tube, they appear to become stationary. Perhaps it is for this reason that they do not become disorganized. I assume that this is true, for a culture streaked upon an agar slant and at once sealed will make, for a time, a slow growth, which gradually diminished, ceasing before the usual dimensions of the growth are attained. This was well illustrated by a series of sealed tubes of Bacillus dianthi of which Nos. 29, 30, 31 and 35 are only the last ones which have been opened. This germ was sealed in the presence of hydrogen excluding oxygen at the time the fresh streak was made. Yet, when opened three years later the few germs which

Name of organism	Origin of old culture	Condition of the old culture	Age of old cultures	New cultures	Remarks on new growths etc.
1) Bac. venosus var. brevis	From spleen of rat	Thoroughly air dried on agar	5 yrs 1 mo.	Bouillon	Dead. Slide from old culture shows only disorganized granules
2) ,, ,, ,, ,,	Grand Forks Water supply	Potato agar, air dried	6 ,, 1 ,,	,,	No Bac. venosus, growth contaminated
3) Bac. lactis erythrogenes	Russell's Lab.	Agar, air dried	5 ,, 3 ,,	,,	No growth, old culture shows disorganized granules
4) Bac. acidi lactici	,, ,,	Agar, thoroughly dried	5 ,,	,,	No growth
5) Bac. venosus var. brevis	G. F. Water supply	Potato agar dried	6 ,, 1 ,,	,,	,, ,,
5a) Bac. acidi lact.	Russell's Lab.	Agar, thoroughly dried	6 ,, 4 ,,	,,	No growth of Bac. acidi lactici. Oidium lactis present for some reason
6) Bac. typhi abd. (Boston)	,, ,,	Agar, air dried	4 ,,	Bouillon and Agar	Good growths in all cultures
7) Rhizopus nigricans	Arthur's Lab.	Gelatin, air dried	5 ,,	Bouillon	Slow to start, finally resuscitated
8) Oospora sp.	Air of stable	Agar, dried	6 ,,	,,	Started after $1^1/_2$ months, normal characters
9) Oospora sp. No. 16a	,, ,, ,,	Air dried agar	6 ,,	,,	dto.
10) Bac. subtilis	Russell's Lab.	,, ,, ,,	4 ,,	Bouillon and Gelat.	Good growth, spores found on dried agar
11) Bac. venosus	Spleen of rat	,, ,, ,,	5 ,, 1 ,,	Bouillon	No growth
12) ,, ,,	,, ,, ,,	,, ,, ,,	5 ,, 1 ,,	,,	,, ,,
13) Bac. typhi abdom.	Wesbrook's Lab.	Bouillon, hermetically sealed	2 ,,	Agar and Bouillon	No growth at first on agar, typical development in bouillon and afterwards upon agar from this bouillon
14) Pneumococcus Friedl.	Russell's Lab.	Agar, sealed when half dried	5 ,, 6 ,,	,, ,, ,,	Typical growth upon both
15) H. L. B.'s No. 49.	Milk	Sealed when half dried	1 yr 9 ,,	,, ,, ,,	Normal growth upon booth cultures
16) Field's No. 93.	,,	Agar, sealed half dried	1 ,, 9 ,,	,, ,, ,,	Slow in starting, but finally good growth
17) H. L. B.'s No. 43B	,,	Agar, completely dried	1 ,, 9 ,,	Agar	dto.
18) Bac. coli comm.	Pammel's Lab.	Agar, sealed, not dried	5 yrs 4 ,,	,,	Slow of growth, germs on old culture found to be of normal form
19) H. L. B.'s No. 2	Milk	Agar, air dried	3 ,, 4 ,,	Bouillon and Agar	No growth, but germs on old agar found to be of normal form
20) Bac. subtilis	Russell's Lab.	Agar, sealed, air dried	5 ,, 2 ,,	Agar	Immediate heavy growth
21) Bac. typhi abd. (Boston)	,, ,,	Agar, sealed, culture appearing fresh	5 ,,	Agar and Bouillon	Cultures contaminated, but the Boston germ present.
22) H. L. B.'s No. 28	Milk	Air dried on agar	3 ,,	Bouillon and Agar	Dead. Old culture shows only a mass of granules
23) Hall's No. 12	,,	Agar, partly dried when sealed	4 ,,	,, ,, ,,	Normal germ present in all cultures
24) Hall's No. 30	,,	Agar, thoroughly air dried	2 ,,	,, ,, ,,	Good growth from both cultures
25) H. L. B.'s No. 35, 1/2	,,	On agar, sealed	2 ,,	,, ,, ,,	,, ,, ,, ,, ,,
26) Bac. typhi abd (Ashland)	Russell's Lab.	Agar, sealed, looks fresh	5 ,,	,, ,, ,,	No good growth on either culture
27) H. L. B.'s No. 35, 3/4	Milk	Agar, sealed, looks fresh	3 ,,	,, ,, ,,	No growth, but original culture shows the germs in normal shape

28) Bac. amylovorus	Arthur's Lab.	Agar, looks fresh, hermetically sealed	9 yrs	Bouillon and agar	Good growth in both cultures
29) Bac. dianthi	From Carnation	Sealed under 30 mm pressure, on agar	9 „ 2 mo.	„ „ „	No growths
30) „ „	„ „	As in last, looks fresh	9 „ 2 „	„ „ „	„ „
31) „ „	„ „	As in last, germs appearing normal in color	9 „ 2 „	„ „ „	Good growths in both cultures. The color returned slowly
32) Bac. indt.	From potato	Agar, sealed, looks fresh	9 „ 1 „	„ „ „	No growth in cultures, but germs from old cultures have normal form
33) Rhizopus nigricans	Arthur's Lab.	Hermetically sealed, on agar, many spores.	9 „ 3 „	„ „ „	Unable to get any growths on new culture but old culture afterwards revived
34) „ „	„ „	dto.	9 „ 3 „	„ „ „	No growths obtained
35) Bac. dianthi	From Carnation	On agar, sealed, looks fresh	9 „ 1 „	„ „ „	Early growth in both cultures, normal in color etc.
36) H. L. B.'s No. 24b	From milk	Sealed, remains fresh	1 yr 9 „	„ „ „	Normal growths
37) Cladothrix intricata.	Russell's Lab.	On agar, sealed, and appears to be normal	6 yrs 1 „	„ „ „	Quick normal growths
38) Mucor sp.	From milk	On agar, sealed, appears fresh	5 „	„ „ „	No growth, dead.
39) Oidium lactis	„ „	On agar, sealed, appears to be fresh	4 „ 6 „	„ „ „	No growths on cultures. Slide shows normal conidia but void of contents
40) Wurzelbacillus	Russell's Lab.	On agar, sealed, poor showing	4 „ 7 „	„ „ „	No growths
41) Oospora sp.	From milk	On agar, sealed, appears to be fresh and normal	3 „	„ „ „	„ „
42) Hall's No. 66	Milk	On agar, sealed, and appears fresh	4 „ 1 „	„ „ „	Growth on agar
43) Bac. lactis erythrogenes	Russell's Lab.	On agar, sealed, normal color and looks fresh	4 „ 3 „	„ „ „	Germs from old culture appear normal in shape, but gave no growth
44) H. L. B.'s No. 17b	Pasteurized cream	On agar, sealed, fresh and normal	5 „ 7 „	„ „ „	Good growth agar, germs normal
45) H. L. B.'s No. 12b	Milk	On agar, sealed, and appears fresh	2 „ 1 „	„ „ „	No growths
46) Bac. coli comm. ("Iowa typhoid")	Russell's Lab.	On agar, sealed, appearing fresh	4 „ 7 „	„ „ „	Good strong growth and normal form
47) Conn's No. 22	„ „	dto.	3 „ 2 „	„ „ „	Germs from old culture normal in appearance, and gave good growth, on agar
48) H. L. B.'s 17g	From milk	On agar, sealed, seems normal in appearance	4 „	„ „ „	Good growth on agar
49) Bac. typhi abd. (Eberth)	Novy's Lab.	On agar, sealed, appears fresh and normal	2 „ 3 „	„ „ „	Germs normal in appearance on old culture and gave a heavy growth
50) Hall's No. 44	From milk	On agar, sealed, fresh and normal in appearance	1 yr 9 „	„ „ „	Good growth on agar
51) Bac. typhi abd. (Boston)	Russell's Lab.	On agar, sealed, normal in appearance	4 yrs 7 „	„ „ „	Germs normal in microscopic form, giving normal growths on both cultures

had been deposited in the needle track, but up to that time had not developed, began a good normal growth. Many duplicates of Nos. 28 and 29, in which the streak was made just prior to sealing and in which the atmospheric pressure was reduced at the time of sealing to 30 mm, gave essentially like results. Because of the slight amount of oxygen in the tube at date of sealing, little or no growth was made; i. e., the germs remained comparatively quiescent. When, however, open to the air many months later and plugged as ordinary cultures tubes are with sterile cotton, these streak cultures at once took on the normal growth form and character. This observation of the non-disorganization of living or possibly dead germs upon a moist organic substratum, in the probable absence of oxygen, I consider to be the most important emphasis of this paper. The point is further indicated by the single test No. 13 of the table, in which Bacillus typhi abdominalis lived two years in a sealed bouillon culture.

Government Experiment Station for North Dakota, 9th Aug. 1899.

Die Bedeutung der Milchsäurefermente für die Bildung von Eiweisszersetzungsprodukten in Emmenthalerkäsen,

nebst einigen Bemerkungen über die Reifungsvorgänge.

Von **Ed. v. Freudenreich** und **Orla Jensen.**

(Fortsetzung.)

Mit einem Druck von 6 Atmosphären filtrierte die neue Kerze F 400 ccm Käseextrakt in $^1/_2$ Stunde, die schon gebrauchte Kerze B dasselbe Volumen in 22 Stunden. Man sieht daraus, daß die Kerzen um so mehr lösliche Proteïnstoffe zurückhalten, je größer ihr Widerstand ist. Wir sind deshalb bei der Verwendung des Filtrierpapiers geblieben, mit welchem man jedenfalls vergleichbare Resultate bekommen kann, wenn man nur immer auf die gleiche Weise operiert.

In den zwei folgenden Punkten haben wir von den im schweizerischen Lebensmittelbuch angegebenen Methoden Abweichungen gemacht.

1) Der Amidstickstoff wurde direkt in einem aliquoten Teile des Filtrates des mit Phosphorwolframsäure ausgefällten Käseextraktes ermittelt (ca. 1 g des Käsepulvers entsprechend), anstatt ihn als Differenz zwischen dem gesamten löslichen Stickstoffe und dem Stickstoffe des Phosphorwolframsäureniederschlages zu berechnen. Erstere Methode ist viel einfacher, weil man es nicht nötig hat, den mit Phosphorwolframsäure erhaltenen Niederschlag auf ein Filter zu bringen und ihn dort gründlich auszuwaschen.

2) In der Gesamtasche und in der löslichen Asche wurde das Kochsalz durch Titrierung mit $^1/_{10}$ Normalsilbernitratlösung bestimmt und abgezogen, um die respektiven kochsalzfreien Aschenmengen zu bekommen. Die dabei gleichzeitig erhaltenen Zahlen für den Koch-

salzgehalt der Käse zeigten sich immer zu niedrig, trotzdem die Asche nur bei Rotglühhitze im Muffelofen geglüht wurde. Aus diesem Grunde wurde der Kochsalzgehalt auf folgende Weise ermittelt: Etwa $^1/_2$ g des Käsepulvers wird mit 5 g einer Mischung von 2 Teilen $NaHCO_3$ und einem Teile KNO_3 in einem zugedeckten Platintiegel bei gelindem Feuer verbrannt. Nach Erkalten löst man die Masse auf, neutralisiert mit Salpetersäure und titriert mit $^1/_{10}$ Normalsilbernitratlösung. Diese Methode ist bekanntlich zuverlässig.

Eine vollständige chemische Käseanalyse wurde nur für die großen, in der Molkereischule gemachten Käse unternommen. Für die kleinen, im Laboratorium hergestellten Käse haben Wassergehalt, Kochsalzgehalt und dergleichen Bestimmungen weniger Interesse, weil diese Käse nicht unter normalen Bedingungen behandelt werden können. Für solche Käse sind bloß die für unseren Zweck wichtigsten Faktoren bestimmt worden, nämlich Gesamtstickstoff, gesamter löslicher Stickstoff und Amidstickstoff, wodurch die Art und der Grad der Reifung genügend gekennzeichnet wird.

Wir gehen nun über zu den Resultaten der einzelnen Versuchsserien.

I. Kleine Versuchskäse aus pasteurisierter Milch.

1) Käse vom 12. Januar 1898. Eingeimpfte Bakterienart: Bacillus γ (250 ccm Bouillonkultur).

Untersuchung vom 15. April 1898. Der geimpfte Käse schmeckt gut gereift; der Kontrollkäse hat gar nicht den Geschmack eines gereiften Käses.

Bakteriologische Untersuchung: Die Platten bleiben steril, sowohl bei dem geimpften wie bei dem Kontrollkäse. Da kleine Versuchskäse ziemlich schnell austrocknen, läßt sich dieses negative Resultat leicht erklären, wenn man bedenkt, daß die Käse bereits 3 Monate alt waren, und daß zur Impfung der Platten überhaupt sehr geringe Käsemengen zur Verwendung kommen.

		Kontrollkäse	Geimpfter Käse
Chemische Analyse:	Löslicher Stickstoff[1]	12,35 Proz.	12,80 Proz.
	Amidsticksoff	4,02 „	4,65 „

2) Käse vom 24. Januar 1898. Impfung mit Bacillus ι (250 ccm Kultur).

Am 8. März 1898 schmeckt der geimpfte Käse etwas gereift, der andere kaum; letzterer ist auch etwas gebläht.

Bakteriologische Untersuchung: Bacillus ι im geimpften Käse, sehr viele Kolonieen eines Blähung verursachenden Bacillus auf den Platten des Kontrollkäses.

		Kontrollkäse	Geimpfter Käse
Chem. Untersuchung:	Löslicher Stickstoff	15,02 Proz.	13,43 Proz.
	Amidstickstoff	4,44 „	4,80 „

3) Käse vom 9. Februar 1898. Gleichfalls Impfung mit 250 ccm Kultur von Bacillus ι.

1) Hier wie in den folgenden Tabellen sind löslicher Stickstoff und Amidstickstoff in Prozenten des Gesamtstickstoffes angegeben.

Die Käse wurden am 22. März 1898 untersucht. Der geimpfte Käse schmeckt gereift, der andere nicht.

Bakteriologische Untersuchung: Im Kontrollkäse Bact. lactis acidi, im geimpften Bacillus ι und Bact. lactis acidi.

Chemische Analyse:

	Kontrollkäse	Geimpfter Käse
Löslicher Stickstoff	18,29 Proz.	12,16 Proz.
Amidstickstoff	3,50 „	5,88 „

4) Käse vom 14. Februar 1898. Impfung mit Bacillus ε (250 ccm Kultur).

Die Untersuchung findet am 5. April 1888 statt. Im Geschmacke kein großer Unterschied. Der geimpfte Käse ist jedoch etwas gereifter.

Bakteriologische Untersuchung: Im Kontrollkäse Bact. lactis acidi. Im geimpften Käse ist der gleiche Mikroorganismus vorhanden. Bacillus ε nicht mehr aufzufinden.

Chemische Analyse:

	Kontrollkäse	Geimpfter Käse
Löslicher Stickstoff	15,70 Proz.	15,68 Proz.
Amidstickstoff	3,45 „	4,04 „

5) Käse vom 12. Juli 1898. Impfung mit Bacillus ε (300 ccm Kultur).

Untersuchung am 18. Oktober 1898. Der Kontrollkäse wenig gereift; bei dem geimpften Reifung bemerkbar.

Bakteriologische Untersuchung: Die Platten gaben meist negative Resultate, eine Erscheinung, die bereits bei Besprechung von Versuch 1 erklärt wurde.

Chem. Untersuchung:

	Kontrollkäse	Geimpfter Käse
Löslicher Stickstoff	18,18 Proz.	15,69 Proz.
Amidstickstoff	2,75 „	4,74 „

6) Käse vom 7. Februar 1898. Impfung mit Bacillus ε (200 ccm Kultur in Bouillon).

Diese Käse wurden zweimal untersucht, am 19. März und am 25. Mai 1898, also nach 5 Wochen und $2^1/_2$ Monaten. Weder am 19. März noch am 25. April schmeckte der Kontrollkäse gereift, dagegen war das beim geimpften Käse bereits am 19. März der Fall. Am 25. April wurde die Reifung als sehr gut notiert.

Bakteriologische Analyse: Am 19. März blieben bei dem Kontrollkäse die Gelatineplatten steril, eine Agarplatte dagegen gab 10 Kolonieen eines verflüssigenden Bacillus. Am 25. April blieben Agar- und Gelatineplatten steril. Nur in Bouillon dagegen, geimpft mit einer Platinöse der zweiten Verdünnung der Käseemulsion, entwickelten sich verflüssigende Bacillen. Diese scheinen also seit der ersten Untersuchung an Zahl abgenommen zu haben. Der geimpfte Käse gab bei der ersten Untersuchung Bacillus ε und das Bact. lactis acidi, bei der zweiten Analyse bloß letzteres.

Chem. Analyse:

		Kontrollkäse	Geimpfter Käse
Lösl. Stickstoff	19. März	18,72 Proz.	11,70 Proz.
	25. April	21,96 „	13,05 „
Amidstickstoff	19. März	3,59 „	4,06 „
	25. April	5,06 „	6,04 „

7) Käse vom 31. Januar 1898. Impfung mit Bac. ε, Bac. δ, Bac. γ, Bac. ι, je 100 ccm Kultur.

Die Käse werden zweimal untersucht, am 1. März und am 20. April 1898, also nach 1 und $2^3/_4$ Monaten. Bereits am 1. März schmeckt der geimpfte Käse deutlich gereift, während dieses bei dem Kontrollkäse nicht der Fall ist; letzterer ist etwas weichkäseartig.

Bakteriologische Untersuchung: Am 1. März giebt der Kontrollkäse nichts auf den Gelatineplatten, dagegen eine Kolonie eines Tyrothrix Bacillus auf einer Agaroberflächenplatte. Am 20. April geben die Gelatineplatten das Bact. lactis acidi. Eine Agaroberflächenplatte gab 3 Kolonieen eines die Gelatine verflüssigenden Bacillus. Der geimpfte Käse enthält beide Male die eingeimpften Bakterien. Genaue Zählungen sind in diesen kleinen Käsen nicht vorgenommen worden wegen der Schwierigkeiten, die damit verbunden gewesen wären. So wächst z. B. ε gar nicht auf Gelatineplatten, wie bereits erwähnt worden, und die meisten Milchsäurefermente bilden so ähnliche Kolonieen, daß sie kaum voneinander zu unterscheiden sind.

Chemische Analyse:			Kontrollkäse	Geimpfter Käse
	Lösl. Stickstoff	1. März	16,49 Proz.	13,03 Proz.
		20. April	23,33 „	15,38 „
	Amidstickstoff	1. März	2,85 „	4,33 „
		20. April	6,32 „	8,15 „

8) Käse vom 27. Mai 1898. Impfung mit Bacillus ε und Bact. lactis acidi (400 ccm Kultur von Bac. ε und 200 ccm Kultur des Bact. lactis acidi). Untersuchung am 30. Juli 1898. Der geimpfte Käse schmeckt gut gereift, der andere gar nicht.

Bakteriologische Untersuchung: Im Kontrollkäse Bact. lactis acidi. Im geimpften Käse ebenfalls.

Chem. Untersuchung:		Kontrollkäse	Geimpfter Käse
	Löslicher Stickstoff	19,22 Proz.	13,09 Proz.
	Amidstickstoff	1,92 „	3,23 „

9) Käse vom 13. Juni 1898. Impfung mit Bacillus ε (200 ccm Kultur) und Bacillus α (100 ccm Kultur).

Untersuchung am 22. August 1898. Der Kontrollkäse schmeckte nicht gereift, der geimpfte Käse hatte den Geschmack eines gereiften Käses.

Bakteriologische Analyse: Im Kontrollkäse Bact. lactis acidi, im geimpften fand man nur noch Bacillus α am Leben.

Chemische Analyse:		Kontrollkäse	Geimpfter Käse
	Löslicher Stickstoff[1])	9,04 Proz.	6,22 Proz.
	Amidstickstoff	2,62 „	3,34 „

10) Käse vom 15. Juni 1898. Impfung mit Bacillus ε (200 ccm Kultur) und Bacillus α (100 ccm).

Untersuchung am 4. August 1898. Der geimpfte Käse schmeckt gereift, der andere nicht.

Bakteriologische Untersuchung: Im geimpften Käse die eingeimpften Bakterienarten. Die Platten des Kontrollkäses geben Kolonien eines verflüssigenden Bacillus.

---

1) Die geringe Menge löslichen Stickstoffes in diesem Versuche rührt davon her, daß man hier versuchshalber den wässerigen Käseextrakt durch eine Chamberland-sche Kerze filtriert hatte, statt durch Papier, wie gewöhnlich.

Chem. Untersuchung:		Kontrollkäse	Geimpfter Käse
	Löslicher Stickstoff	14,61 Proz.	11,67 Proz.
	Amidstickstoff	1,57 „	2,64 „

11) Käse vom 13. Juli 1898. Impfung mit je 200 ccm Kultur von Bacillus ε und Bacillus α.

Untersuchung vom 18. Oktober 1898: Der Kontrollkäse schmeckt nicht gereift. Der geimpfte Käse ist ziemlich gereift, beide sind aber zu trocken.

Bakteriologische Untersuchung: Die Platten des Kontrollkäses geben einige Kolonieen des Bact. lactis acidi; die Platten des geimpften Käses einige Kolonieen von Bacillus ε und α und des Bact. lactis acidi.

Chem. Untersuchung:		Kontrollkäse	Geimpfter Käse
	Löslicher Stickstoff	20,52 Proz.	13,37 Proz.
	Amidstickstoff	1,14 „	5,48 „

12) Käse vom 17. November 1898. Impfung mit Bacillus ε (300 ccm Kultur in Schotten) und Bacillus α (200 ccm Schottenkultur).

Untersuchung am 30. Januar 1899: Der geimpfte Käse schmeckt gereift, ist normal und ganz gut. Der Kontrollkäse dagegen hat eine weißliche Farbe und hat gar keinen Käsegeschmack; vielmehr läßt er einen unangenehmen Beigeschmack zurück. Auch der Geruch des geimpften Käses ist derjenige eines guten Emmenthalerkäses, während dieses bei dem Kontrollkäse nicht der Fall ist.

Bakteriologische Untersuchung: Das Bact. lactis acidi im Kontrollkäse; im geimpften Käse nur ε und α.

Chem. Untersuchung:		Kontrollkäse	Geimpfter Käse
	Löslicher Stickstoff	22,02 Proz.	14,08 Proz.
	Amidstickstoff	1,38 „	4,71 „

13) Käse vom 8. November 1898. Gleicher Versuch wie No. 12, jedoch wurde auch eine Kultur des Bact. lactis acidi, außer Bacillus ε und α, zugesetzt.

Untersuchung am 31. Januar 1899: Der Kontrollkäse schmeckt schlecht und nicht gereift, der Teig ist weißlich geblieben. Der geimpfte Käse hat gelblichen Teig und sehr guten Geschmack. Emmenthalerkäsegeruch ist bei diesem Käse deutlich wahrnehmbar, nicht aber bei dem Kontrollkäse.

Bakteriologische Untersuchung: Im Kontrollkäse Bact. lactis acidi, auch einige Kartoffelbacillenkolonieen. Im geimpften Käse nur die drei eingeimpften Mikroorganismen.

Chem. Untersuchung:		Kontrollkäse	Geimpfter Käse
	Löslicher Stickstoff	19,68 Proz.	17,89 Proz.
	Amidstickstoff	2,76 „	6,31 „

14) Käse vom 12. Dezember 1898. Impfung mit Bacillus ε (350 ccm Milchkultur) und Bacillus α (200 ccm Milchkultur).

Untersuchung am 17. Februar 1899: Der geimpfte Käse schmeckt gut und gereift. Der Kontrollkäse ist schlecht und nicht gereift.

Bakteriologische Untersuchung: Bact. lactis acidi im Kontrollkäse, im geimpften Käse nur α und ε.

Chem. Untersuchung:

		Kontrollkäse	Geimpfter Käse
Chem. Untersuchung:	Löslicher Stickstoff	20,09 Proz.	12,60 Proz.
	Amidstickstoff	3,34 „	5,91 „

15) Käse geimpft mit Tyrothrix tenuis (200 ccm Bouillonkultur nebst Agarkulturen), am 10. November 1898 hergestellt.

Untersuchung am 15. Januar 1899: Reifung vorhanden, aber unangenehmer Beigeschmack.

Bakteriologische Untersuchung: Ungefähr noch 75000 Tyrothrix-Bacillen per Gramm nebst unzähligen Kolonieen des Bact. lactis acidi.

Chemische Untersuchung:	Löslicher Stickstoff	19,01 Proz.
	Amidstickstoff	1,94 „

16) Da im vorigen Versuche mit den flüssigen Kulturen des T. tenuis nicht bloß dieser Bacillus, sondern auch die von ihm gebildeten Enzyme, welche nach Duclaux' Untersuchungen bekanntlich sehr wirksam sind und von diesem Forscher Casease genannt wurden, dem Käse zugesetzt worden waren, so impfte man in einem neuen Versuche, um eine Einwirkung dieser Casease möglichst zu beseitigen, die Milch mit Sporen des T. tenuis (3 Agarkulturen). Man stellte am 21. Januar 1899 zwei solche Käse her, von denen der eine am 20. März, der andere am 26. Mai untersucht wurde. Der am 20. März untersuchte Käse ist weißlich und schmeckt gar nicht gereift. Die bakteriologische Untersuchung giebt 130000 Tyrothrix-Kolonieen per Gramm, aber keine Milchsäurefermente. Der am 26. Mai, also nach 4 Monaten untersuchte Käse enthielt noch 55000 Tyrothrix per Gramm.

		2 Mon. alt. Käse	4 Mon. alt. Käse
Chem. Untersuchung:	Lösl. Stickstoff	19,17 Proz.	15,98 Proz.
	Amidstickstoff	0,85 „	1,37 „

Folgende Tabelle, welche gleichzeitig den Amidstickstick in Prozenten des gesamten löslichen Stickstoffes angiebt, läßt die Resultate der chemischen Analyse in dieser Versuchsserie besser übersehen (s. Tabelle p. 44).

Wenn man einen Blick auf die Resultate dieser Versuchsserie wirft, so fallen zunächst folgende drei Thatsachen auf:

Erstens zeigt sich, daß in allen mit Milchsäurefermenten geimpften Käsen mehr Amidstickstoff gebildet worden ist, als in den Kontrollkäsen und in den mit Tyrothrix-Bacillen geimpften Käsen und daß derselbe in Prozenten des gesamten löslichen Stickstoffes berechnet, in ersteren Käsen viel mehr als in letzteren sich der Zahl 50 nähert, wenn er sie auch nicht ganz erreicht, was besonders darin seine Erklärung findet, daß die Käse meist in einem ziemlich frühen Stadium untersucht wurden. Warum bei einzelnen Käsen die Unterschiede besonders markiert sind, wie z. B. bei No. 11, 12, 13, 14, ist schwer zu sagen und hängt wahrscheinlich mit mehreren Faktoren zusammen, so der größeren oder geringeren Lebensfähigkeit der eingeimpften Bakterien, der Menge der zugesetzten Kulturen u. a. m. In den eben erwähnten Versuchen 11, 12, 13 und 14 hatte man Molken- oder Milchkulturen benutzt, welche Nährmedien für die Entwickelung von Bacillus ε viel günstiger sind als Bouillon. Auch äußere Umstände, wie langsamere oder raschere Austrocknung der

No. des Versuchs	Eingeimpfte Bakterien	Alter der Käse zur Zeit der Untersuchung	Von 100 Teilen des gesamten Stickstoffes sind in Lösung übergegangen: Ingesamt – Kontrollkäse	Ingesamt – Geimpfter Käse	In Form von Eiweißzersetzungsprodukten (Amidstickstoff) – Kontrollkäse	In Form von Eiweißzersetzungsprodukten (Amidstickstoff) – Geimpfter Käse	Amidstickstoff in Prozenten des gesamten lösliches Stickstoffes – Kontrollkäse	Amidstickstoff in Prozenten des gesamten lösliches Stickstoffes – Geimpfter Käse
1	Bac. γ	3 Monate	12,35	12,80	4,02	4,65	32,45	36,30
2	Bac. ι	1½ Monat	15,02	13,43	4,44	4,80	29,56	36,48
3	"	"	18,29	12,16	3,50	5,88	19,13	47,69
4	Bac. ε	1¾ Monat	15,70	13,68	3,45	4,04	21,97	29,53
5	"	"	18,18	15,69	2,71	4,74	14,90	30,21
6	"	1¼ Monat	18,72	11,70	3,59	4,06	19,18	34,70
"	"	2½ Monate	21,96	13,05	5,06	6,04	23,04	46,28
7	ε, δ, γ, ι	1 Monat	16,49	13,03	2,85	4,33	17,28	33,23
"	"	2¾ Monate	23,33	15,38	6,32	8,15	27,09	53,00
8	Bac. ε u. Bact. lact. acid.	2 "	19,22	17,09	1,92	3,23	9,99	18,89
9	Bac. ε + Bac. α	2¼ "	9,04[1])	6,22	2,62	3,34	—	—
10	"	1½ Monat	14,61	11,67	1,57	2,64	10,74	22,62
11	"	3 Monate	20,52	13,37	1,14	5,48	5,55	40,98
12	"	"	22,02	14,98	1,38	4,71	6,26	31,50
13	ε + α	"	19,68	17,89	2,76	6,31	14,02	35,21
14	Bact. lact. acid. ε + α	2¼ Monate	20,09	12,60	3,34	5,91	16,64	46,90
15	T. tenuis	"	—	19,01	—	1,94	—	10,20
16	"	2 Monate	—	19,17	—	0,83	—	4,33
"	"	4 "	—	15,98	—	1,37	—	8,51

1) Die geringe Menge löslichen Stickstoffes rührt davon her, wie früher erwähnt, daß in diesem Versuche ein Chamberland'sches Filter gebraucht wurde. Daher wurde davon abstrahiert, den Amidstickstoff in Prozenten des gesamten löslichen Stickstoffes anzugeben, da man zu hohe Zahlen bekommen hätte.

Käse, die bei kleinen Versuchskäsen nicht immer leicht zu verhindern ist, Ungleichheit im Salzen u. s. w. mögen hier von Einfluß gewesen sein. Bemerkenswert ist, daß gerade die mit Tyrothrix-Bacillen, die von Vielen noch immer als die eigentlichen Reifungserreger angesehen werden, geimpften Käse bezüglich der Bildung von Amidstickstoff am niedrigsten stehen. (Fortsetzung folgt.)

Nachdruck verboten.

Galaktase, das der Milch eigentümliche proteolytische Ferment, seine Eigenschaften und seine Wirkung auf die Proteide der Milch.

[Beitrag von der Wisconsin Agricultural Experiment Station.]

Von S. M. Babcock und H. L. Russell in Madison, Wis., U. S. A.

Mit 8 Figuren.

(Fortsetzung.)

Ehe wir die bei diesen Experimenten erhaltenen Resultate vorführen, geben wir folgende Tabelle, welche die Beziehungen zwischen diesen Fermenten und den benutzten Bakterienkulturen erklärt:

Tabelle V. Allgemeine Uebersicht über das Verhältnis der benutzten Enzyme und Organismen.

Klasse der Substanzen, worauf gewirkt wird		Bedingung der stärksten Wirkung	Enzyme von tierischem Ursprung	Bakterienkulturen
		alkalisch	Galaktase	B. subtilis (Heubacillus)
Proteide	proteolytisch	alkalisch	Trypsin	
		alkalisch	Pankreatin	Milch verdauende
	hydrolytisch	sauer	Pepsin	Species (B. 299)[1]
		sauer	Rennin	(B. 83)[2]
Kohlehydrate	Säure erzeug.	neutral		B. acidi lactici
	Gas erzeugend	neutral		B. coli communis

1) Charaktere der Milch digerierende Bakterien. Die folgende kurze Charakteristik der beiden studierten Arten wird ihre Bestimmung erlauben:

B. 299. Isoliert aus unvollkommen sterilisierter Milch. Mittelgroßer, beweglicher, aërobischer Bacillus mit großen centralen Sporen. Zeigt auf Agar ein weißes, etwas trockenes, faltiges Wachstum, das in älteren Kulturen gelb wird. Verflüssigt Gelatine langsam. Sehr charakteristisches Wachstum auf Kartoffel, welches, solange es jung ist, eine dicke, runzlige Decke von blaßgrüner Farbe zeigt, die später die ganze Kulturoberfläche überzieht, dunkelgrün aussieht und in die Unterlage eindringt. Milch wird zum Gerinnen gebracht und schnell digeriert, mit alkalischer Reaktion.

2) B. 83. Ebenfalls aus unvollkommen sterilisierter Milch isoliert. Verflüssigt Gelatine schnell. Auf Agar weißes, feuchtes Wachstum. Auf Kartoffel weißes, gefaltetes Wachstum, sich über die ganze Oberfläche ausbreitend. Farbstoff wird nicht gebildet. Fleischbrühe wird leicht getrübt, wobei sich auf der Oberfläche eine Haut bildet. Milch gerinnt und wird schnell digeriert, wobei die Reaktion alkalisch wird.

Plan der Untersuchung.

Um bei der analytischen Arbeit jeden persönlichen Einfluß möglichst auszuscheiden, wurden die hierbei anzustellenden chemischen Analysen in zwei vollkommen unabhängigen Reihen von unseren beiden Assistenten, den Herren Vivian und Hastings, ausgeführt. Selbst die Reagentien wurden getrennt zubereitet. Der Plan dieser Experimente war folgender:

Die erste von Vivian analysierte Reihe enthielt alle Enzyme von tierischem Ursprung zugleich mit einer Bakterienkultur (B. subtilis), welche eine digestive Wirkung auf Proteide ausübt. Die zweite Reihe, von Hastings analysiert, umfaßte die sämtlichen Bakterienkulturen nebst dem proteolytischen Enzyme Trypsin. Auf diese Weise konnte jeder von dem Verfahren des Analytikers herrührende Irrtum entdeckt werden.

Anordnung der Experimente.

Die zur Untersuchung gewählte Milch war frische Separatormilch mit einem Säuregehalt zwischen 0,15 und 0,2 Proz. Alle Proben wurden 3—4 mal in strömendem Dampfe an aufeinanderfolgenden Tagen sterilisiert. Nach der Sterilisierung kamen sie bei 25—35° C zwischen 5 und 15 Tagen in den Brütofen, um ihre absolute Sterilität zu bestimmen. Dann wurden sie mit den verschiedenen Enzymen und Bakterienkulturen inokuliert. Die, welche Enzyme erhalten hatten, wurden in dicht verschlossenen Zweiliterflaschen aufbewahrt, denen 2 Proz. Chloroform hinzugefügt worden war, um jede Verunreinigung durch zufällig hinzugekommene Bakterien zu vermeiden. Die benutzten Enzyme waren im Handel vorkommende Musterfermente. Rennin, Pepsin und Pankreatin waren von Parke, Davis & Co. von Detroit, Mich., Trypsin von Eimer & Amend, New York. Die Galaktaselösungen wurden aus frisch bereiteten, centrifugierten Schlammextrakten erhalten. Natürlich befindet sich dieses Ferment nicht in so reinem Zustande wie die anderen Fermente. Ohne Zweifel wird die Menge des hinzugefügten Enzyms unter verschiedenen Umständen etwas wechseln. Dies gilt vorzüglich für die Galaktase, wo das besondere Enzym nicht von anderen Proteiden getrennt ist. Die mit Bakterienkulturen inokulierten wurden in Erlenmeyer'schen Flaschen zu 500 ccm gehalten, wobei jedesmal eine besondere Flasche zur Bestimmung der löslichen Produkte benutzt wurde. Auf diese Weise wurde jede Gefahr von verunreinigenden Kulturen vermieden, weil kein Glas geöffnet wurde, ehe es zur Analyse bereit war. Dieses Verfahren verstärkt materiell den Wert der gewonnenen analytischen Resultate, denn es bedeutet in der Praxis, daß jede Reihe so oft wiederholt wurde, als Analysen gemacht wurden. Zu gleicher Zeit könnten auch in verschiedenen Flaschen leichte Unterschiede in dem Maße der Zersetzung vorkommen und so geringe Variationen in den analytischen Resultaten verursachen.

Die Bakterienübertragungen wurden mit Kulturen gemacht, die auf festem Substrat gewachsen waren, um so eine Vermehrung des Stickstoffs, der aus dem Kulturmittel stammte, zu vermeiden.

Alle Proben, sowohl Enzyme als Bakterien, wurden bei nahezu konstanter Temperatur (36—38 ° C) gehalten.

Proben wurden analysiert in folgenden bestimmten Perioden: 1, 2, 4, 8 und 16 Wochen.

Analytische Methoden.

Da in der Benennung der verschiedenen Proteidkörper bedeutende Verwirrung herrscht, wird Tabelle VI beigegeben, in welcher die Synonyme angegeben werden, zur Bezeichnung der verschiedenen Typen von Proteiden, auf die sich die physiologischen Chemiker beziehen. Man muß bedenken, daß der Charakter dieser niedergeschlagenen Proteidkörper je nach dem gebrauchten Reagens verschieden ist und darum vollkommene Gleichstellung zwischen den durch verschiedene Methoden erhaltenen Resultaten nicht möglich ist.

Tabelle VI. Klassifizierung von Proteidkörpern.

Name des bei der Abscheidung gebrauchten Reagens	Name der Proteidgruppe	
Hitze und Essigsäure	Albumin und Kasein	{ Albumen Globulin Kasein
$ZnSO_4$	Albumosen	{ Primäre Albumosen { Hetero Proto Sekundäre Albumosen { Deutero } Proteosen
Tanninsäure, Phosphor-Wolframsäure	Peptone	{ Antipepton Hemipepton } Amphopepton
Nicht durch Reagentien niedergeschlagen	Amide	{ Leucin Tyrosin etc. Asparaginsäure
MgO	Ammoniak	Ammoniak

Die angegebenen Methoden wurden in der Absicht gewählt, zwischen den wohl anerkannten Klassen der Produkte der Proteidzersetzung zu unterscheiden, solcher, wie die Albumosen, die Peptone, die Amide und das Ammoniak. Zuerst wurde der ganze Stickstoff bestimmt, dann die Milch mit Essigsäure angesäuert und auf 100 ° C erhitzt, um Kasein und Albumin niederzuschlagen. Nach Filtrierung wurde der Niederschlag gewaschen und das Filtrat auf eine bestimmte Menge gebracht und in einem bestimmten Teile davon der lösliche Stickstoff bestimmt. Zu einem anderen Teile dieses Filtrats wurde $ZnSO_4$ bis zur Sättigung zugesetzt, um die Albumosen und den in dem Filtrate enthaltenen Stickstoff niederzuschlagen, indem die Albumosen durch den Unterschied bestimmt wurden. Andere, den löslichen Stickstoff enthaltende Teile des Filtrats wurden mit Gerbsäure, bezw. Phosphor-Wolframsäure behandelt, um zwei Klassen von Peptonen von den Amiden zu trennen. In jedem Falle wurde der Stickstoff in dem Filtrate bestimmt, nachdem das Präzipitat durch das Gruppenreagens getrennt worden war. Der Unterschied im Betrage des in den Filtraten mit den verschiedenen angewendeten Reagentien gefundenen Stickstoffs stellt den Stickstoff in der spezifischen Gruppe von Proteiden dar, welche, wenn sie auch nicht in allen Be-

ziehungen identisch sind, sich doch auf ähnliche Weise gegen diese Reagentien verhalten.

Infolge der relativen Unlöslichkeit der Amidkörper (Tyrosin und Leucin) in Wasser oder verdünnten Säuren ist es möglich, daß in einigen Fällen ein Teil dieser Produkte mit dem Kasein und Albumin abgeschieden worden sein kann, so daß diese Gruppe auf Kosten der Amide zugenommen hätte. Aber solche Irrtümer können nur sehr gering gewesen sein, weil die Verdünnung immer sehr bedeutend war und keine Krystalle der Amidkörper bei mikroskopischer Untersuchung der Milch gefunden wurden, außer in einem Falle. Dieser Irrtum wird auch unwahrscheinlich gemacht durch die konstant abnehmende Menge des Kaseins und Eiweißes, während die Amide beim Fortschreiten des Experiments zunahmen. In der Kultur B. 299 schieden sich große Mengen von Tyrosinkrystallen aus der Milch ab.

Keinenfalls würde ein Irrtum dieser Art die allgemeinen Folgerungen über die digestive Wirkung der benutzten Fermente beeinträchtigen. Es würde einfach die anscheinende Digestion in den letzten Stadien des Experiments vermindern und so die hier aufgestellten Theorieen kräftigen.

Analytische Resultate für die ganze Periode.

Wenn verschiedene Fermente, bakterielle oder chemische, der Milch zugesetzt werden, ist nach Verlauf einer gewissen Zeit ein auffallender Unterschied in der Beschaffenheit der Proteidbestandteile wahrzunehmen. Den Prozentsatz des sämtlichen Stickstoffs, der unter solchen Umständen in lösliche Produkte verwandelt wird, ersieht man in der folgenden Tabelle und den begleitenden Figuren.

Tabelle VII. Prozentgehalt des sämtlichen Stickstoffs in löslicher Form in Milch mit verschiedenen Fermenten.

	Zeit in Tagen					
	1	7	14	28	56	112
Käse	5	7	13	18	28	44
Galaktase	20	46	48	57	66	76
Trypsin I	16	78	82	87	87	89
„ II	16	82	84	83	86	86
Pankreatin	15	37	41	48	52	61
B. subtilis I	16	33	41	—	82	82
„ „ II	16	32	39	48	81	77
B. 299	9	77	90	92	93	93
B. 83	9	91	92	96	98	100
Pepsin	15	10	10	12	12	12
Rennin	15	14	14	13	14	13
B. acidi lactici	11	10	11	11	11	13
B. coli communis	13	8	8	10	—	9

In dieser Tabelle sieht man sogleich eine entschiedene Differenzierung. Die proteolytischen Fermente zeigen eine entschiedene fortschreitende Bildung von löslichen Stickstoffprodukten. Pepsin ist von den anderen proteolytischen Fermenten dadurch unterschieden, daß in derselben Milch, welche mit den anderen digestiven Fermenten benutzt wurde, keine Digestion eintrat, indem der lösliche Stickstoff

unverändert blieb. Wenn jedoch derselben Milch 0,10 Proz. Milchsäure hinzugefügt wurde, trat deutliche proteolytische Wirkung auf; dies würde anzeigen, daß die anscheinende Säuerung der Milch, die durch die Benutzung von Phenolphthalein als Indikator bewirkt wird, von sauren Salzen und Caseïn und nicht von freier Säure herrührt, denn Pepsin wirkt immer in Lösungen, die freie Säure enthalten. Dies wird noch weiter dadurch gestützt, daß das Ferment Rennin in dieser gekochten Milch nicht einmal Gerinnung verursachte, aber wenn diese angesäuert wurde, trat schnell Gerinnung ein.

Von den nicht digerierenden Bakterienkulturen zeigten der Milchsäurebacillus und die Gas erzeugenden Arten keine wahrnehmbare Zunahme des löslichen Stickstoffs.

Das Studium der proteolytischen Zersetzungen zeigt immer, daß ein gewisser Betrag von Stickstoff vorhanden ist, der durch die verschiedenen Fermente nicht affiziert wird. Ein Teil davon ist das Nukleïn der Proteïdmoleküle, aber der größte Teil rührt von der Anhäufung von Zersetzungs-Nebenprodukten her, welche die Fortdauer der Digestion stören. Das Maß der Veränderung variiert je nach den verschiedenen Fermenten, und dies erklärt sich durch die verschiedene Menge der hinzugefügten Fermente oder durch eigentümliche Unterschiede in der Wirkung dieser Fermente. In solchen Fällen, in denen voneinander unabhängige doppelte Reihen gemacht wurden (Trypsin und Kulturen des B. subtilis), wurde eine überraschende Uebereinstimmung der analytischen Resultate bemerkt.

Charakter der Zersetzungsprodukte.

Wenn die benutzten Fermente spezifisch verschieden sind, könnte man annehmen, daß sie sich durch die Art und Menge der gebildeten Zersetzungsprodukte unterscheiden lassen. Das Studium dieser Produkte zeigt sogleich, daß das Proteïdmolekül in allen Fällen tief betroffen wird, indem die Zersetzungsprodukte von der stark komplizierten Albumosegruppe bis zu den tiefer stehenden Stickstoffverbindungen reichen, die durch die Amide und in einigen Fällen durch Ammoniak dargestellt werden. Die bei diesem Studium erhaltenen Angaben über die verschiedene Menge der durch die verschiedenen Enzyme in der Milch hervorgebrachten Zersetzungsprodukte sind in der folgenden Tabelle dargestellt, in welcher auch, zur Vergleichung, die Zersetzungsprodukte angegeben sind, die sich in verschiedenen Perioden in dem reifenden Cheddarkäse finden (s. Tab. VIII. p. 50).

Man sieht sogleich, daß Trypsin und Pankreatin sich von der Galaktase und den von den benutzten Bakterienkulturen herstammenden proteolytischen Enzymen dadurch unterscheiden, daß von der letzteren Gruppe immer Ammoniak erzeugt wird, während unsere Experimente mit Milch, Trypsin und Pankreatin keine abschätzbare Menge davon hervorbrachten, wie durch die gewöhnlichen Methoden der NH_3-Bestimmung bewiesen wird. Während die hier in Verbindung mit Galaktase gegebenen Resultate die Analyse der einzelnen Reihe darstellen, stimmen sie vollkommen mit Hunderten von Analysen überein, die im Verlauf unserer Studien über Milchfermente gemacht worden sind.

Tabelle VIII. Prozentuale Beträge der Proteïdzersetzungsprodukte, die in der Milch durch proteolytische Fermente gebildet werden. (Zeit der Digestion 112 Tage.)

Klasse der Produkte		Käse 120 T. alt	Galaktase	Trypsin I	Trypsin II	Pankreatin	B. subtilis I	B. subtilis II	B. 299	B. 83
Unlöslicher N	Essigsäure und Wärme	2,21	0,15	0,06	0,074	0,21	0,10	0,125	0,025	0
N als Albumose	schwefelsaures Zink	0,16	0,06	0	0	0,03	0	0	0	0
N als Pepton	Gerbsäure	0,09	0,11	0,15	0,15	0,07	0,02	0,056	0,009	0
„	Phosphor-Wolfsamsäure	0,34	0,15	0,15	0,20	0,08	0,21	0,15	0,057	0,058
N als Amide	nicht fällbar durch Reagentien	0,61	0,10	0,18	0,125	0,15	0,01	0	0,24	0,229
N als Ammoniak	Magnesiumoxyd	0,17	0,04	0	0	0	0,20	0,215	0,113	0,149
Total N	In Milch	3,58	0,61	0,54	0,545	0,54	0,54	0,546	0,40	0,40

Während wir nicht imstande waren, nachzuweisen, daß NH_3 in der Milch als Resultat der Trypsindigestion gebildet wird, haben Hirschler[1]) und Stadelmann[2]) gezeigt, daß kleine Mengen von NH_3 in fibrinhaltigen Lösungen gebildet werden. Möglicherweise kann dieser Unterschied von der Art des benutzten Proteïds abhängen oder die in Milch erzeugte Menge von NH_3 kann zu gering sein, als daß sie durch die angewendete Methode nachgewiesen würde.

Andererseits ist die in der Milch durch Galaktase gebildete Menge von NH_3 hinreichend, um wenigstens eine quantitative Differenzierung zu gewährleisten. Die nahe Beziehung zwischen Galaktase und reifendem Cheddarkäse geht aus der Gleichheit der Zersetzungsprodukte in beiden Fällen hervor, obgleich die Menge in jeder Gruppe natürlich infolge des verschiedenen Inhalts und der Umstände wechselt.

Bei der schnellen Wirkung des reinen Ferments, des Trypsins, könnte man erwarten, daß die endlichen Zersetzungsprodukte mit diesem Ferment früher gewonnen werden würden, als mit den weniger konzentrierten Enzymen. Dies trifft nicht nur mit dem Trypsin zu, sondern auch mit den proteolytischen bakteriellen Enzymen (B. subtilis, B. 299 und B. 83), wo nach 112 Tagen keine Albumose gefunden wird (obgleich sie in früherer Zeit in Menge vorhanden ist), aber große Mengen der letzten Zersetzungsgruppe (tiefer stehende Peptone und Amide bei Trypsin, NH_3 in Kulturen von digerierenden Bakterien) finden sich in den späteren analystischen Stadien.

---

1) Zeitschr. f. phys. Chem. Bd. X. 1886. p. 302.
2) Zeitschr. f. Biol. Bd. XXIV. 1887. p. 261.

(Schluß folgt.)

Pilzkrankheiten von Kulturpflanzen in der Provinz Hannover. II.

Von **C. Wehmer.**

Nachfolgende Zusammenstellung ist eine Fortsetzung meiner Mitteilungen aus dem Jahre 1896[1]) und bezieht sich zunächst nur auf das letzte Jahr (1899). Sie führt nur solche Pilzkrankheiten auf, welche in der Provinz — soweit meine Feststellungen reichen — von allgemeinerer Verbreitung waren. In Verbindung mit dem Material der vorhergehenden Jahre und weiterer Beobachtungen wird sich mit der Zeit eine brauchbare Uebersicht über das geben lassen, was an Pilzkrankheiten im Gebiete eine Rolle spielt.

Epidemisch auftretende Krankheiten übrigens sind selbstverständlich noch nicht erklärt, wenn wir nur den Pilz nach seinen Eigenschaften kennen und einige gelungene Infektionsversuche vorzeigen können. Unsere Zeit überschätzt die Pilze etwas, denn die Hauptrolle spielen da oft ganz andere Faktoren, ohne deren Hinzukommen die Ausbreitung der Parasiten sich meist in engen Grenzen hält[2]). Auch hier gilt der Satz, daß bei allen Resultaten, die die Natur uns bietet, es sich um Kombinationen handelt (Pfeffer), und das bleibt weiterhin auch seitens der Bekämpfungsmaßregeln zu beachten.

1) Erdbeerfäule durch Botrytis.

Die reifenden Früchte verfaulten bei der nassen Witterung in solchem Umfange, daß der Schaden der Züchter ein beträchtlicher war. Vielfach ist ein ganz erheblicher Teil der Ernte vernichtet worden[3]). Der Pilz durchsetzt die ergriffenen Früchte mit großer Schnelligkeit und macht sie geschmacklos, also wertlos; sie bedecken sich alsbald mit dem bekannten mausgrauen Schimmelrasen der Botrytis cinerea, die ja als ganz gemeiner Pflanzenschädling hinreichend bekannt ist. Das für die Infektion ausschlaggebende Moment ist auch hier wohl in der andauernd nassen Oberfläche der Frucht in Verbindung mit austretenden Saftspuren zu suchen; Keimschläuche wie Hyphen des Pilzes (dessen Elemente von allgemeiner Verbreitung sind) kommen so zu rascher Entwickelung und Wirkung. Für derartige weiche, zarthäutige Früchte ist Bodennähe, zumal bei feuchtem Wetter, unstreitig sehr gefährlich.

2) Mehltau der Apfelbäume.

Diese Erscheinung verdient mehr Beachtung, als man ihr bislang schenkte, denn einmal ist sie verbreiteter, als man annimmt,

1) Dieses Centralblatt. 1896.

2) Eine sachgemäße Erörterung dieses Punktes findet man bei Aderhold, Ueber die in den letzten Jahren in Schlesien hervorgetretenen Krankheiten unserer Obstbäume und ihre Beziehung zum Wetter. (Vortrag i. d. Sitzung d. Sektion f. Obst- u. Gartenbau. Breslau 1899.)

3) Aehnliches wird auch von anderen Orten berichtet, so durch Sorauer (Prakt. Ratgeber. 1899).

und weiterhin hat gerade sie einen Anteil an dem vielfach beobachteten Dürrwerden von Obstbaumzweigen. Trotzdem darf sie hinsichtlich der anstoßgebenden Momente noch als ziemlich rätselhaft bezeichnet werden, denn sie entwickelt sich und erlischt, ohne daß für beides ein zureichender Grund zu sehen ist. Ihr Auftreten fällt in den Frühsommer (Mai-Juni) und verrät sich bei größeren Bäumen leicht durch die reichlich abfallenden, unterseits mit dichtem, mehlartigem Pilzüberzuge bedeckten Blätter, mit Juli erlischt sie wieder allmählich und der Pilz scheint spurlos verschwunden; es bleiben als Zeuge nur mehr oder weniger zahlreiche entblätterte, dürrwerdende Zweige. Er befällt also weder notwendig das gesamte Laubwerk eines Baumes, noch setzt er über eine gewisse Zeit hinaus seine Entwickelung auf den noch verbliebenen Blättern fort. Gerade in der für manche anderen Mehltaupilze günstigen Zeit feuchter Hoch- bezw. Spätsommermonate ist er also gewöhnlich nicht mehr vorhanden, wie sein Auftreten im Mai 1899 auch in eine relativ warme, trockene Zeit fiel. Ob das regelmäßig so ist, bleibe dahingestellt, die hier gegebenen genaueren Daten beziehen sich speziell auf einige während des ganzen Sommers fortlaufend beobachtete Bäume, trafen in diesem Jahre aber auch für andere Orte des Gebietes zu.

Zunächst eine notwendige Bemerkung über die Species. Alle mir vorgelegenen Blätter bezw. Zweige wiesen nur die Conidienform auf, so daß also auch die ältesten Vegetationen keine Perithecien ausbildeten[1]). Ob es sich um Sphaerotheca Castagnei Lév. oder Podosphaera Oxyacanthae DC. handelt, bleibt also offen, reichlich waren aber immer die Picniden des Cicinnobolus Cesati de By. vorhanden. In der Litteratur wird insbesondere Podosphaera als Apfelbaumschädling angegeben („Apple Powdery Mildew" der Amerikaner), und zwar als hauptsächlich in der Conidienform auftretend. In den Vereinigten Staaten soll die Art ein für Obstbäume sehr verderblicher Parasit sein, wie auch Tubeuf[2]) bemerkt, daß sie jährlich junge Topfpflanzen von Apfel- und Birnbäumen entblätterte und zum Absterben brachte. Auf der anderen Seite bezeichnete Sorauer[3]) den von ihm beobachteten Apfelschädling als Sphaerotheca Castagnei Lév., unter welchem Namen er auch neuerdings mehrfach aufgeführt wurde. Wenn überhaupt, so bildet die hier in Frage kommende Art — im Gegensatz zu der Sphaerotheca — jedenfalls nur unter ganz besonderen Umständen Schlauchfrüchte und sie scheint mehr dem Oidium farinosum Cooke zu entsprechen, dessen Zugehörigkeit zu Sphaerotheca oder Podosphaera übrigens auch Frank[4]) offen läßt.

Hervorgehoben sei, daß sie ganz besonders die Blattunterseite bevorzugt, hier kommt es zumal längs der Rippen zu einer

1) Ebensowenig entstanden sie auf Blättern längere Zeit weiter beobachteter Zweige im Zimmer (im Wasser stehend). Die Blätter wurden dürr; unter Glasglocke überzogen sie sich aber rasch mit fremden Schimmelvegetationen (Cephalothecium).

2) Pflanzenkrankheiten. p. 193.

3) Hedwigia. 1889.

4) Pflanzenkrankheiten. 2. Aufl. Bd. II. p. 268.

solch massenhaften Abschnürung von Conidien, daß sich diese als dichter, grauer oder graurötlicher, mehliger Flaum (farinosum!) dort anhäufen und Hyphen späterhin nur noch schwer aufzufinden sind (Durchschnittsgröße der Conidien: $20-30 \times 14-18\ \mu$). Aus dieser Bevorzugung der (vielfach ja stärker behaarten) Blattunterseite ergiebt sich zweierlei: Einmal krümmen sich die beiden Hälften der Spreite schwach aufwärts gegeneinander, was derartigen vom Mehltau befallenen Zweigen ein ganz charakteristisches Aussehen giebt; das aufwärts gebogene langstielige Blatt ist auch ohne nähere Betrachtung oder besondere mikroskopische Untersuchung ohne weiteres als mehltau-krank kenntlich. Weiterhin aber ist deshalb die (bei größeren Bäumen überhaupt kaum durchführbare) übliche Bekämpfung durch Schwefeln hier geradeso wie beim Rosenmehltau ziemlich gegenstandslos, da das Schwefelpulver sich im ganzen natürlich nur auf die seltener infizierte Blattoberseite legt. Dem entsprechen auch die Erfahrungen, wie sie hier mit dieser immer wieder empfohlenen Bekämpfungsmethode gemacht sind. Gleiches gilt für die Verwendung von Spritzmitteln, sofern dabei nicht die Unterseite der Blätter berücksichtigt wird; ob man freilich mit Erfolg der einmal entwickelten Epidemie entgegentreten kann, bleibt noch zu zeigen. Auffällig bleibt die Thatsache, daß trotzdem doch die Mehrzahl der Conidien auf die Oberseite der Blätter stäubt, die vorzugsweise Entwickelung des Parasiten nicht hier, sondern unterseits stattfindet: Diesen Punkt finde ich in der Litteratur nirgends hervorgehoben und daher auch wohl das alte Schema des Schwefelns, bei dem die Blätter im ganzen doch nur oberhalb mit Schwefelblumen bestäubt werden. — Uebrigens möchte ich auch schon aus der Art sowie dem Zeitpunkt des Auftretens den Pilz nicht mit dem leicht Perithecien-bildenden, mir gleichzeitig vorliegenden Hopfenmehltau (Sphaerotheca Castagnei Lev.) identifizieren.

Von den verschiedenen Apfelsorten ist wenigstens der „Gravensteiner" dem Erkranken sehr leicht unterworfen; auf welche Sorten sich andere Mitteilungen bezogen, war leider nicht bemerkt, resp. zu ermitteln. Jedenfalls habe ich selbst einen sonst tadellosen jüngeren, ca. 10 m hohen Gravensteiner während des letzten Sommers fortlaufend beobachtet (unmittelbar im Garten hinter meinem Hause); Beginn, Ende und Erfolg der Krankheit war so auch mit Genauigkeit zu konstatieren. Dieselbe ging in diesem Falle nicht auf einen unmittelbar angrenzenden sowie einige entferntere Birnbäume über, trat jedoch gleichfalls auf abseits stehenden jungen Spalierbäumen auf. Sämtliche erholten sich alsbald von selbst, nachdem sie eine Anzahl kleiner Zweige (verdorrt) eingebüßt hatten. Weit verderblichere Wirkung wurde unter Einsendung total befallener Zweige aus Springe am Deister berichtet, wo die Schädigung angeblich eine stetig wachsende sein soll, Bekämpfung mit Schwefel auch resultatlos war (diverse Sorten). Uebrigens ist auch im vorigen Jahre in der Provinz Hannover (nach persönlicher Mitteilung des Herrn Obstbaulehrers Friedrich) sehr allgemein über den frühzeitigen Blätterverlust gerade des Gravensteiner Apfels geklagt, ohne

daß leider eine Feststellung der Ursache stattfand; auch da hat es sich allem Anscheine nach um dieselbe Krankheit gehandelt. In diesem Jahre trat sie schon von Anfang Mai an und, wie es scheint, in verstärktem Maße auf. Umfangreichere Erhebungen liegen hier sehr im Interesse der Klarstellung dieser eigenartigen Erkrankung[1]).

3) Mehltau der Rosen (Sphaerotheca pannosa Lév.).

In diesem Jahre von ganz allgemeiner Verbreitung im Gebiete und nach bezüglichen Feststellungen eigentlich an keinem Orte fehlend, wenn auch nicht gleichmäßig alle Sorten und Exemplare befallend. Merkbarer war das Auftreten erst gegen den Herbst (September), was bei dieser Art wohl überhaupt Regel ist: auffällige Schädigung (durch Vernichtung von Trieben) war seltener, gewöhnlich handelte es sich um die bekannten Verkrümmungen der Blätter, soweit solche an den einzelnen Pflanzen befallen waren.

Gerade wie der Apfelmehltau bevorzugt er die Blattunterseite, ohne die Oberseite deshalb ganz zu meiden; für die übliche Bekämpfungsmethode durch Schwefeln gilt also dasselbe wie oben. Uebrigens findet eine Bekämpfung der Rosenkrankheiten nur ausnahmsweise statt (u. a. in den städtischen Anlagen Hannovers). Auch bei dieser Krankheit wölbt sich die Blattspreite nach der dem Sitze des Parasiten abgewendeten Seite, gewöhnlich nach oben[2]), was wohl durch krankhaftes Wachstum der von demselben infizierten unteren Epidermis zu erklären ist. Spritzmittel (Kupferbrühe) wären zumal bei Halb- und Hochstämmen wohl mit Erfolg anzuwenden und sollten in bedenklichen Fällen nicht versäumt, wenigstens aber doch versucht werden.

4) Rosenrost (Phragmidium subcorticium Schr.)

Fehlt gleichfalls nirgends im Gebiete auf Gartenrosen und scheint um so häufiger, je sorgloser die Kultur ist, so daß er stellenweise als eine Kalamität angesehen werden darf. Andere Bekämpfungsmittel als ein radikales Vorgehen sind hier wohl ausgeschlossen, da einmal infizierte Büsche kaum zu heilen sind, allerdings findet man ihn gewöhnlich nur in der blattbewohnenden Form, die augenfällige Schädigung der Pflanze seltener zur Folge hat, aber doch vorzeitigen Laubfall bewirken kann.

5) Actinonema Rosae Lib. (Asteroma R.).

Verunziert insbesondere die Kulturen niedriger Rosen verschiedenster Sorten durch rasche Entblätterung wenigstens bei nasser Witterung und sollte deshalb etwas mehr beachtet werden. Er fand sich auch in diesem Sommer fast überall, wo danach gesucht wurde, und scheint an demselben Orte regelmäßig wieder aufzutreten, so daß

---

1) Wesentliche Fortschritte erwarten wir allerdings nur von einer Neugestaltung der Organisation des Pflanzenschutzes. Es kann da insbesondere nur eine weitgehende Decentralisation Besserung schaffen und begegne ich mich hier ganz mit den Ausführungen Sorauer's (Zeitschr. f. Pflanzenkrankh. 1898. p. 49).

2) Eine gute Abbildung eines derartigen Triebes findet sich bei Tubeuf (Pflanzenkrankheiten. 1895. p. 190).

er wohl auf dem abfallenden Laub in irgend einer Form überwintert, obgleich bislang ja nur die Picniden bekannt sind. Absuchen der ersten braunfleckigen Blätter sowie Vernichtung bezw. Beseitigung der abgefallenen kommen für die Bekämpfung zunächst in Frage; zumal durch ersteres würde man die Ausbreitung wohl einschränken.

Die braunrote Farbe der nicht gerade immer ausgesprochen strahligen Flecke löst sich — beiläufig — mikroskopisch übrigens in die bekannte Violettfärbung mit Sitz in den Pallisadenzellen auf („Anthocyan"), verdeckt wird sie durch die darüberliegenden mißfarbigen Pilzelemente inkl. Epidermis. Hier hat also der Pilzangriff ein Farbstoffauftreten im Pallisadengewebe — wie es sonst auch durch anderweitige äußere Einwirkungen oder spontan zustande kommt — zur Folge; nicht so wirken aber Rost oder Mehltau, was physiologisch interessant und noch zu erklären wäre[1]).

Die Bevorzugung der älteren Triebblätter seitens des Pilzes ist eine Erscheinung, die sich manchen ähnlichen an die Seite stellt (Phytophthora, Getreiderost u. a.) und gleichfalls darthut, daß keineswegs Jugendstadien allgemein gegen parasitäre Angriffe empfindlicher sind; es hängt das vielmehr ganz von der Art des Parasiten ab.

6) Monilia-Krankheit der Kirschbäume.

Diese neuerdings so populär gewordene Krankheit ist gleichwie in den Vorjahren wiederholt aufgetreten und hat an vielen Orten gesunde Bäume mehr oder minder beschädigt. Leider ist der Erfolg des mit Lebhaftigkeit gegen sie geführten Kampfes auf dem platten Lande noch ein recht geringer, indem selbst in Bezirken, wo polizeiliche Verfügungen erlassen wurden, die verdorrten Zweige nach wie vor ungestört am Baume bleiben. Nur wo man durch Schaden klug wurde, ändert sich die Sache, freilich auch nicht überall. Immerhin gehören bedenklichere Fälle zu den Ausnahmen, und wir wissen immer noch nicht genau, was da alles mitspielt. Die Krankheit weist jedenfalls bestimmt darauf hin, daß die Aufgaben unseres wissenschaftlichen Pflanzenschutzes immerhin über die Registrierung von Krankheitsfällen und Empfehlung von Fungiciden etwas hinausgehen, wir aber momentan über das Stadium des blinden Umhertappens kaum fort sind.

Für meine Vermutung, daß neben dem Pilze und äußeren Umständen vielleicht noch ein anderes („inneres") Moment in Frage kommt, habe ich inzwischen eine bemerkenswerte Stütze anzuführen; es ist das ein im letzten Sommer (1899) beobachteter Fall beim Bahnhof Höftgrube (unweit Neuhaus a. d. Oste), wo von 3 unmittelbar nebeneinanderstehenden gleichaltrigen Sauerkirschbäumen 2 vollbelaubt blieben, der 3. aber total abstarb. Die beiden Nebenbäume zeigten nur einzelne Monilia-vernichtete Zweige, obschon sie der Infektion natürlich in gleichem Maße ausgesetzt waren. Das ist gleichsam die Erscheinung, daß gewöhnlich nur ein Teil der von der

1) Dagegen hat der Rost auf Brombeerblättern (Phragmidium Rubi Wint.) diese Wirkung und bewirkt hier lebhafte rote Umränderung der infizierten Stellen.

Infektion bedrohten Zweige des Baumes abstirbt, in etwas größeren Maßstab übersetzt. Im übrigen sah ich auch einzelne Fälle, wo Bäume, die im vorigen Jahre noch kränkelten (partiell dürr), jetzt ganz tot waren. Vielleicht werden wir bei dieser Krankheit, die nicht vom grünen Tische aus zu erledigen ist, die Sonde noch etwas tiefer führen müssen. Jedenfalls zeigt der erwähnte Fall, daß auch bei Gleichheit aller Faktoren der Effekt individuell sehr verschieden, also nicht der Pilz allein ausschlaggebend ist. Die Frage harrt also noch einer allseitig befriedigenden Lösung.

Wenn in der Mehrzahl der Fälle der Pilz auch durch die Blüte einzudringen scheint, so bleibt doch das in diesem Jahre wiederholt beobachtete Absterben steriler Zweigsysteme noch ungeklärt und es muß hier wenigstens ein anderer Infektionsweg vorhanden sein. Rechtzeitige Beobachtungen am Orte selbst sind in erster Linie berufen, eine weitere Klärung zu bringen; infektiöse Krankheiten — beiläufig bemerkt — werden auch sonst zunächst an Ort und Stelle studiert und dies Verfahren können auch die Bestrebungen des Pflanzenschutzes nicht entbehren. Daraus folgt die Notwendigkeit einer dauernd thätigen Aufsicht in den einzelnen Bezirken neben reger wissenschaftlicher Arbeit in den Instituten.

7. Monilia-Krankheit der Früchte.

Von der Verbreitung und Schädlichkeit dieses Pilzes legen die jährlich sich wiederholenden Ernteverluste hinreichend Zeugnis ab. Die Sorglosigkeit der ganz überwiegenden Zahl unserer Landleute und Obstzüchter trifft immerhin ein Teil der Schuld, denn im allgemeinen geschieht sehr wenig, um die erkrankten Früchte zu vernichten und der Pilz vegetiert auf dem Baume ebenso freudig wie unterhalb auf dem Fallobst, das man, wenn unbrauchbar, einfach liegen läßt. Es ist klar, daß so jedenfalls die Zahl der Keime ganz außerodentlich vermehrt wird und der Erfolg etwaiger Vorbeugungsmaßregeln mindestens unsicherer gemacht wird.

Kirschen, Pflaumen, Birnen- und Aepfelsorten sind bei uns sein Lieblingssubstrat. Häufig war er in diesem Jahre besonders auf Zwetschen (September mit viel Nässe!).

8. Verschiedene Rostkrankheiten.

Außer dem bereits erwähnten Rosenrost fällt als von allgemeinerer Verbreitung der Bohnenrost (Uromyces Phaseoli [Pers.]) ins Auge; er fehlt wohl nirgends und in keinem Jahre, gehört aber unstreitig zu den harmloseren seiner Art, da selbst stark infizierte Kulturen nicht sichtbar geschädigt wurden. Ich habe ihn mit einer Ausnahme nur auf den Blättern von Stangenbohnen-Sorten gefunden, und Buschbohnen (ebenso „türkische Bohnen") bleiben gewöhnlich auch dann von ihm frei, wenn neben ihnen auf dem gleichen Stück stark infizierte Vietsbohnen stehen.

Minder häufig, aber stärker schädigend fand sich Uromyces Viciae Fabae Schröt. auf sog. „großen Bohnen", von denen z. B. ein Stück total verkümmert war (Otterndorf a. Elbe); neben ihm im gleichen Garten gediehen der Phaseolus-Rost und Erbsen-Mehltau

in freudigster Weise! (Glücklicher Besitzer!) Einen gleichen Fall fand ich im Vorjahre am Deister (Lauenau), immer aber erst gegen Herbst hin.

Seltener und praktisch meist bedeutungslos ist auch der Erbsenrost (Uromyces Pisi Schröt.).

Mehr beachtet wird der erfreulicherweise bislang harmlose Weidenrost (Melampsora Hartigii Thüm.?), seitdem man u. a. auch in den Elbmarschen umfangreiche Korbweidenkultur treibt und solche felderweise mit Nutzen auf bestem Boden (vereinzelt selbst auf früheren Weizenfeldern!) zieht. Auch bei totalem Befall aller Blätter ist bisher eine schädliche Wirkung auf das Gedeihen der Pflanzen nicht konstatiert[1]).

Aehnliches gilt — mit Ausnahmen — von den allgemein verbreiteten Getreiderosten (Puccinia-Arten), während andererseits der notorisch verderbliche Gitterrost der Birnen (Gymnosporangium Sabinae [Dicks.]) bei seinem selteneren Vorkommen im Gebiete ohne praktische Bedeutung ist. Im ganzen gilt das auch für den Johannisbeerrost (Cronartium ribicolum Dietr.) mit seinem die Weymuthkiefer bewohnenden Aecidium (so z. B. reichlich am Dobrock), das aber unbedingt auszurotten wäre. Leider fehlen Angaben über die Wirkung des verfrühten Blattfalls der Johannisbeeren. Häufiger beobachtet wurde in diesem Sommer noch die Puccinia coronata Cond. auf Rhamnus Frangula.

9) Sonstige Mehltauarten.

Bemerkenswert neben den bereits genannten ist vielleicht nur der gerade im Sommer 1899 um Hannover verbreitet aufgetretene Mehltau des Weinstockes (Oidium Tuckeri), der manche Traube vernichtete, trotzdem man gerade diesem Sommer keine allzu große Feuchtigkeit nachsagen kann. Auch aus anderen Gebieten (Oesterreich) wurde derartiges gemeldet. Der Erbsenmehltau (Erysiphe Martii Lév.) ist gewöhnlich da, unbeständiger dagegen der auf Getreide (E. graminis), und der auf (wildem) Hopfen (Sphaerotheca Castagnei Lév.). Sie fallen gegenüber dem auf Apfelbäumen und Rosen weniger ins Gewicht.

10) Anderweitige Krankheiten.

Von sonstigen Krankheiten seien noch folgende kurz erwähnt.

Fleckenkrankheiten auf Gurken (Cladosporium) und Bohnen (Colletotrichum) stellen sich gewöhnlich gegen den Herbst ein, werden aber selten besonders beachtet, da die Ware doch verkauft wird und — sofern die Erscheinung nicht zu stark ist — auch normal verkäuflich ist.

Ueber Getreide- und Kartoffelkrankheiten — die beide kaum hervorgetreten sind — ist Neues nicht zu berichten. Das Kraut der Kartoffeln blieb bei der im ganzen günstigen Witterung bis zum Absterben meist gesund, trotzdem kleinere Phytophthora-Flecken überall zu finden waren; ebenso steht es bislang mit den

1) Mehrfach wird jedoch Klage über Insektenschäden geführt, die starke Entwertung des Materials veranlassen können.

Knollen. Allerdings kann ein nasser Spätherbst da noch manches ändern und reichlich Fleckenkrankheit mit nachfolgender Fäule bringen.

Umgekehrt liegt die Sache mit den Obstbäumen verschiedener Art (Apfel-, Birnen- und Pflaumensorten), insbesondere bei den kleineren und mittleren Besitzern; tristes Aussehen infolge mangelnder Pflege fast überall, schorfige Blätter, Zweigdürre, halb abgestorbene Kronen sind die Regel, schlechte Ernten notwendige Folge, und die Fusicladien sind Herrscher der Situation. Der gewaltigen Stoffproduktion, die man dem Baume schon in einer mittleren Ernte zumutet, steht vielfach eine Pflege gegenüber, die fast gar nichts leistet. Die neueren Bestrebungen zur Hebung des Obstbaues werden aber auch da hoffentlich zu besseren Zuständen führen. Eine gewisse Entschuldigung für die mancherorts sehr geringe Pflege liegt ja allerdings in der größeren Unsicherheit der von Obstgärten abgeworfenen Rente und in Hinblick auf die gelegentlich diametral auseinandergehenden Meinungen praktischer Sachverständiger über die Ursache der Mißernte von Bäumen darf man vielleicht die Frage aufwerfen, ob hier nicht noch ganz bestimmte Punkte der wissenschaftlichen Aufklärung warten.

Hannover, 28. Sept. 1899.

Referate.

Fischer, B., Die Bedeutung der bakteriologischen Meeresforschung. (Dtsch. med. Wochenschr. 1899. No. 37.)

Die meisten bisher erfolgten bakteriologischen Untersuchungen des Meerwassers hatten das Studium der Leuchtbakterien und der an den Küsten vorkommenden Verunreinigungen zum Zweck. Ermittelungen über den Mikroorganismengehalt auf hoher See sind nur in geringerem Umfange erfolgt, u. a. durch den Verf. gelegentlich der Planktonexpedition im Jahre 1889, ferner durch Bassenge und neuerdings durch Bachmann anläßlich der deutschen Tiefsee-expedition. Dabei fand sich das Seewasser an der Meeresoberfläche in der Regel keimarm oder keimfrei, vermutlich infolge der bakteriaciden Wirkungen des Sonnenlichtes; nur wo durch aufwärts gerichtete Strömungen eine Zufuhr der Mikroorganismen aus der Tiefe begünstigt war, fanden sich auch in den oberflächlichen Schichten 1000—28 000 Keime im Kubikcentimeter Wasser. In den tieferen Schichten, namentlich in Tiefen von 200—400 m, waren die Mikroorganismen zahlreich vertreten; es fanden sich darunter neben den vorwiegend vorhandenen Bakterien nur Sproßpilze; das Vorkommen der Schimmelpilze beschränkte sich auf die dem Lande nächstgelegenen Teile des Meeres. Unter den Bakterien waren reine Kokken- und Stäbchenformen auf hoher See fast niemals anzutreffen; fast regelmäßig wurden bei den sehr mannigfaltigen Einzelarten schraubig gekrümmte Formen mit Eigenbewegung durch

einpolig angeordnete Geißelbüschel beobachtet. Sporenbildung konnte nicht mehr angenommen werden, doch hielten sich manche Arten bis zu $2^1/_2$ Jahren auf Agar entwickelungsfähig. Die Gram'sche Färbung gelang bei den Meeresbakterien nicht; für die Kulturen war ein Zusatz von Seewasser vorteilhaft, saure Reaktion dagegen nachteilig. Einige Arten erwiesen sich als fakultative Anaëroben. Das Vorkommen der Bakterien in großen Tiefen bewies, daß dieselben hohen Druck vertragen können. Einige Arten bildeten in den Kulturen Farbstoff.

Der Verf. weist auf die Wichtigkeit der Bakterienforschung für die Erklärung der Stoffwechselvorgänge im Meere hin, welche nach vielen Richtungen hin von Interesse sein dürfte. So ist die Abnahme des Plankton von den arktischen nach den tropischen Meeren hin von K. Brandt kürzlich darauf zurückgeführt worden, daß die denitrifizierenden Bakterien nur bei wärmeren Temperaturen des Wassers zu gedeihen und die organische Substanz zu vernichten imstande sind. Verf. hofft, daß sich die Schiffs- und Marineärzte der bakteriologischen Untersuchung des Seewassers mehr und mehr zuwenden werden, und daß das in der Entstehung begriffene ozeanographische Institut derartigen Studien seine Aufmerksamkeit schenken wird. Kübler (Berlin).

Wróblewski, A., Ueber den Buchner'schen Hefepreßsaft. (Centralbl. f. Phys. 1899. Jahrg. XIII. p. 284.)

Zu seinen weiteren Studien und für beinahe alle in der vorliegenden Mitteilung angeführten Angaben verwendete Verf. gepreßte Reinkultur-Bierhefe der Wiener Brauereiakademie.

Formaldehyd hebt die Gärfähigkeit des Saftes auf.

Nach dem Versetzen des Saftes mit neutraler Lösung des salzsauren Hydroxylamins wird die Reaktion nach einiger Zeit sauer und es entsteht ein Niederschlag, wobei die Gärfähigkeit des Saftes erlischt. Das Gärvermögen der lebenden Hefe wird durch den Zusatz von 0,7 Proz. salzsauren Hydroxylamins fast aufgehoben, durch 0,35 Proz. vermindert, und 0,07 Proz. von salzsaurem Hydroxylamin üben nur eine schwach hemmende Wirkung aus. Diesbezügliche Versuche scheinen die Voraussetzung des Verf.'s, daß bei Einwirkung des salzsauren Hydroxylamins die Säure frei wird und auf die Zymase einwirkt, zu bestätigen.

Nach dem Zusatz von 3,4 resp. 5 Proz. $NaNO_2$ entstand bald lebhafte Gasentwickelung. Es entwickelte sich jedoch kein Kohlendioxyd, sondern reiner Stickstoff, der durch die Reduktion des Nitrits entstanden war. Daraus ist ersichtlich, daß der Hefesaft aus den Nitriten freien Stickstoff zu entwickeln vermag, daß er in Bezug auf die Nitrite denitrifizierend einwirkt. Da im Hefesaft neben den ruduzierenden Stoffen noch Amidosäuren und kleine Mengen von Ammonsalzen vorhanden sind, so erklärt sich die denitrifizierende Wirkung des Saftes als ein einfacher chemischer Vorgang.

Der gekochte und von den koagulierten Proteïnstoffen abfiltrierte Saft entwickelt nach Zusatz von Nitrit reichliche Mengen freien Stickstoffs. Da nach dem Zusatz größerer Mengen des Nitrits zum gären-

griffen, von ihnen dringt der Pilz weiter in die dickeren Wurzeln, bis etwa in 4 Jahren ein völliges Absterben die Folge ist. Die ganze Erscheinung erinnert an die Schädigungen durch Rhizomorpha bei uns, auch ist das Helikobasidium nicht an den Maulbeerbaum gebunden, sondern geht auch auf eine ganze Reihe anderer Pflanzen über. Durch die Vermehrungsart mittels Absenker wird natürlich der Krankheit besonders Gelegenheit zur Verbreitung gegeben. Eine Varietät, die immun wäre, ist bis jetzt noch nicht aufgefunden; da aber die Krankheit an feuchten Orten häufiger als an trockenen ist, so wäre ihr vielleicht durch Trockenlegung der bedrohten Maulbeerpflanzungen beizukommen.

Von pflanzlichen Feinden des Maulbeerbaumes kommt noch Phytospora Mori vor, doch ohne in normalen Jahren wesentlichen Schaden zu verursachen. Ebenso sind die meisten tierischen Schädlinge, von denen eine ganze Anzahl aufgeführt werden, wenig ins Gewicht fallend, am meisten ist von diesen noch die Pflanzenblattlaus Kuwayirami, welche von der in der Lombardei auftretenden Diaspis pentagonia zu unterscheiden ist, gefürchtet.

Zahlreicher und dem Seidenbaue größeren Schaden verursachend sind die Krankheiten des Seidenspinners. Infektionskrankheiten treten besonders auf: die Pébrine, die Schlafsucht, Schwindsucht, Kalksucht und die Gelbsucht, die ja auch in Europa mehr oder weniger bekannt sind, während aber in Europa die Seidenraupen unter einer Fliege bisher nicht zu leiden hatten, ist dies in Japan sehr der Fall. Bolle, der die Ujifliege genauer beobachtete, bringt eine eingehende Studie über dieselbe.

Im Anhange finden wir eine ausführliche Bearbeitung der Gelb- oder Fettsucht des Seidenspinners, von welcher Bolle bereits 1894 in seinen „Vorläufigen Mitteilungen über die Gelbsucht der Seidenraupe“ (Atti e Memorie dell' i. r. Società agraria) behauptet hatte, daß sie durch ein Sporozoon, Microsporidium polyedricum, verursacht werde. In der vorliegenden Arbeit finden wir nun ausführlich die Entwickelungsgeschichte des Organismus beschrieben, auch hat der Verf. Uebertragungsversuche sowohl durch Verfüttern infizierter Maulbeerblätter als auch durch subkutane Injektion mit positivem Erfolg ausgeführt. Appel (Charlottenburg).

Neue Litteratur,

zusammengestellt von

San.-Rat Dr. Arthur Würzburg,

Bibliothekar im Kaiserl. Gesundheitsamte in Berlin.

Allgemeines über Bakterien und Parasiten.

Carazzi, D., Manuale di tecnica microscopica: guida pratica per le ricerche di citologia e istologia animale con una appendice di tecnica batteriologica e d'istologia patologica. 8°. XII, 311 p. Milano (Stabil. tipogr. d. soc. editr. libr.) 1899. 7 £.

Thoinot, L. H. and **Masselin, E. J.**, Outlines of bacteriology. A practical handbook. Transl. by W. St. Clair Symmers. 12°. 330 p. London (C. Griffin) 1899. 10 sh. 6 d.

Systematik, Morphologie und Biologie.

Abel, R. u. Buttenberg, P., Ueber die Einwirkung von Schimmelpilzen auf Arsen und seine Verbindungen. Der Nachweis von Arsen auf biologischem Wege. (Ztschr. f. Hygiene etc. Bd. XXXII. 1899. Heft 3. p. 449—490.)

Bertrand, G., Le mécanisme de la fermentation alcoolique et des expériences de Buchner. (Rev. univers. de la distill. 1899. No. 1201/2, 1221/22.)

Bienstock, Recherches sur la putréfaction. (Annal. de l'Instit. Pasteur. 1899. No. 11. p. 854—864.)

Caullery, M. et Mesnil, F., Sur la présence de microsporidies chez les annélides polychètes. (Compt. rend. de la soc. de biol. 1899. No. 29. p. 791—792.)

Dannappel, M., Inwieweit ist die höhere Widerstandsfähigkeit der Bakteriensporen ein allgemeines Charakteristikum derselben gegenüber den vegetativen Spaltpilzformen? [Inaug.-Diss.] gr. 8°. 27 p. Königsberg 1899.

Desmoulins, A. M., La fermentation des moûts et des vins doux mutés. (Moniteur vinicole. 1899. No. 90. p. 357—358.)

Hazen, T. E., The life-history of sphaerella lacustris (Haematococcus pluvialis). (Mem. of the Torrey botan. club. VI. 1899. p. 241—244.)

v. Kuester, Versuche über die Farbstoffproduktion des Bacillus pyocyaneus. (Arch. f. klin. Chir. Bd. LX. 1899. Heft 3. p. 621—634.)

Leonardi, G., Prima lista di Acari raccolti a Portici. (Annali d. reg. scuola super. di agricult. in Portici. Ser. II. Vol. I. 1899. Fasc. 2. p. 493—525.)

Linossier, G., Influence comparée des principaux alcools de fermentation sur l'action des diastases. (Compt. rend. de la soc. de biol. 1899. No. 33. p. 887—889.)

Mrázek, A., Sporozoenstudien. II. Glugea lophii Doflein. (Aus: Sitzungsber. d. k. böhm. Akad. d. Wiss.) gr. 8°. 8 p. m. 1 Taf. Prag (in Komm. Fr. Rivnáč) 1899. 0,52 M.

Schmidt, W., Ueber die geographische Verbreitung des Echinococcus multilocularis und hydatidosus in Bayern auf Grund der Münchener Fälle. [Inaug.-Diss.] 8°. 32 p. München 1899.

Silberschmidt, Sur un nouveau streptothrix pathogène (Streptothrix caprea). (Annal. de l'Instit. Pasteur. 1899. No. 11. p. 841—853.)

Sintenis, F., Forstinsekten der Ostseeprovinzen. (Aus: Sitzungsber. d. Naturforscher-Gesellsch. bei d. Univ. Jurjew [Dorpat].) gr. 8°. p. 173—199. Riga (J. Deubner) 1899. 0,75 M.

Svendsen, C. J., Ueber ein auf Flechten schmarotzendes Sclerotium. (Botan. notiser. 1899. Häftet 5. p. 219—228.)

Thiele, R., Neues aus dem Leben der Blutlaus. [Vorl. Mitteil.] (Ztschr. f. Pflanzenkrankh. Bd. IX. 1899. Heft 5. p. 260—262.)

Tietze, F., Contributo all' acarologia d'Italia: osservazioni sull' acarofauna del littorale di Malamocco (Venezia). 8°. 30 p. Padova 1899.

Wehmer, C., Ueber einige neue Aspergillusarten. (Botan. Centralbl. Bd. LXXX. 1899. No. 12. p. 449—461.)

Beziehungen der Bakterien und Parasiten zur unbelebten Natur.

Luft und Wasser.

Zune et Bonjean, Traité d'analyse chimique, micrographique et microbiologique des eaux potables. Avec 414 figures dans le texte et 2 planches en couleurs hors texte. 2. édit. 8°. Paris (O. Doin) 1899. 10 fr.

Boden.

Vibrans, Ueber Bodenbakterien. (Sächs. landwirtschaftl. Ztschr. 1899. No. 50. p. 635—639.)

Nahrungs- und Genußmittel, Gebrauchsgegenstände.

Fleisch.

Betriebsresultate der preußischen Schlachthäuser im Jahre 1898 nach der im Ministerium für Landwirtschaft etc. zusammengestellten Tabelle. (Berl. tierärztl. Wchschr. 1899. No. 50. p. 599—604.)

Stadler, E., Ueber die Einwirkung von Kochsalz auf Bakterien, die bei den sogenannten Fleischvergiftungen eine Rolle spielen. [Inaug.-Diss.] gr. 8°. 47 p. München 1898.

Milch, Molkerei.

Bøggild, B., Sødmaelks-Pasteurisering. (Maelkeritidende. 1899. No. 50. p. 953—957.)
Troili-Petersson, G., Studien über sauere Milch und Zähmilch. (Ztschr. f. Hygiene etc. Bd. XXXII. 1899. Heft 3. p. 361—374.)

Wohnungen, Abfallstoffe etc.

Enoch, C., Eine neue Desinfektionsmethode mittels Formaldehyd. (Hygien. Rundschau. 1899. No. 25. p. 1274—1283.)
Friedemann, M., Zur Frage der Zimmerdesinfektion mit Formaldehyd. (Dtsche med. Wchschr. 1899. No. 50. p. 828—832.)

Beziehungen der Bakterien und Parasiten zu Pflanzen.
Krankheitserregende Bakterien und Parasiten.

Aderhold, Die Krankheiten der Aprikosen. (Proskauer Obstbau-Ztg. 1899. No. 10. p. 145—147.)
Brišnik, M., Die Ameisen als Rosen- und Obstschädlinge. (Mitteil. d. k. k. Gartenbau-Gesellsch. in Steiermark. 1899. No. 10. p. 173.)
Delacroix, La graisse, maladie bactérienne des haricots. (Compt. rend. de l'acad. d. scienc. T. CXXIX. 1899. No. 17. p. 656—659.)
Hollrung, Der gegenwärtige Stand der Nematodenfrage. (Blätter f. Zuckerrübenbau. 1899. No. 19. p. 300—304.)
Mangin, L., Sur une maladie nouvelle des oeillets. (Compt. rend. de l'acad. d. scienc. T. CXXIX. 1899. No. 19. p. 731—734.)
Maresch, P., Die gefährdete Kartoffelernte. Der Kartoffelblattsauger. (Eine Cicadine.) Chlorita flavescens Fbr. (Centralbl. f. d. Mährischen Landwirte. 1899. No. 17. p. 195—197.)
Massee, G., The cereal rust problem. — Does Eriksson's mycoplasma exist in nature? (Natur. science. 1899. No. 93. p. 337—346.)
Osterwalder, A., Eine epidemische Erkrankung von Gloxinien, verursacht durch eine Anguillula. (Ztschr. f. Pflanzenkrankh. Bd. IX. 1899. Heft 5. p. 262.)
Ouvray, E., I nemici e le malattie parassitarie degli alberi fruttiferi e della vite: trattamenti e rimedî, premessa una conferenza dello stesso autore sulla fisiologia vegetale. Traduz. riservata di R. Rosetti. 8°. 129 p. Parma (Buffetti) 1899. 1,70 £.
Quaintance, A. L., Report of the assistant biologist. Some injurious insects. (Repr. from Ann. rep. of Florida experim. stat. for 1897.) gr. 8°. 20 p. Eustis, Fla. 1898.
— —, Preliminary report upon the insect enemies of tobacco in Florida. (Experim. stat. Record. Vol. X. 1899. No. 11. p. 1068—1069.)
— —, Some insects and fungi destructive to truck and garden crops. (Repr. from Proceed. of the 23. ann. meet. of the Georgia State horticult. soc. 1899.) gr. 8°. 22 p. Augusta, Ga. 1899.

Inhalt.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.

CENTRALBLATT

für

Bakteriologie, Parasitenkunde u. Infektionskrankheiten.

Zweite Abteilung:

Allgemeine, landwirtschaftlich-technologische Bakteriologie, Gärungsphysiologie, Pflanzenpathologie und Pflanzenschutz.

In Verbindung mit

Prof. Dr. **Adametz** in Wien, Prof. Dr. **J. Behrens** in Karlsruhe i. B., Prof. Dr. **M. W. Beijerinck** in Delft, Geh. Regierungsrat Prof. Dr. **A. B. Frank** in Berlin, Dr. v. **Freudenreich** in Bern, Privatdocent Dr. **Lindau** in Berlin, Prof. Dr. **Lindner** in Berlin, Dr. **Morris**, Chef des Hansen-Laboratory, Jenner-Institute of Preventive Medicine in London, Prof. Dr. **Müller-Thurgau** in Wädensweil, Dr. **Erwin F. Smith** in Washington, D. C., U. S. A., Prof. Dr. **Stutzer** in Breslau, Prof. Dr. **Wehmer** in Hannover, Prof. Dr. **Weigmann** in Kiel und Prof. Dr. **Winogradsky** in St. Petersburg

herausgegeben von

Dr. O. Uhlworm in Cassel

und

Prof. Dr. Emil Christian Hansen in Kopenhagen

Verlag von Gustav Fischer in Jena.

VI. Bd. Jena, den 3. Februar 1900. **No. 3.**

Jährlich erscheinen 26 Nummern. Preis für den Band (Jahrgang) 20 Mark. Preis für eine einfache Nummer 75 Pfg., für eine Doppelnummer 1 Mark 50 Pfg. Nummern mit Tafeln kosten für jede Tafel 50 Pfg. mehr.

Hierzu als regelmäfsige Beilage die Inhaltsübersichten der I. Abteilung des Centralblattes.

Wünsche wegen Lieferung von besonderen Abdrücken wollen die Herren Mitarbeiter auf die Manuskripte schreiben oder bei Rücksendung der ersten Korrekturabzüge der Verlagsbuchhandlung mitteilen.

Original-Mitteilungen.

Nachdruck verboten.

Ueber die Bildung und den Bau der Bakteriensporen.

Von Stabsarzt Dr. **Mühlschlegel** in Stuttgart.

Es ist bekannt, daß bei verschiedenen Bakterienarten vor der Sporenbildung eine Differenzierung des Inhaltes beobachtet werden kann. Genauer Einzelschilderungen der hierbei wahrgenommenen Vorgänge sind es jedoch sehr wenige, und diese lassen sich dahin zusammenfassen, daß in dem bisher homogenen Plasma eine „eigentümliche feine Körnelung“ oder „feinkörnige Puderung“, ohne daß

man die einzelnen Körnchen unterscheiden könnte, sichtbar wird. Der weitere Verlauf ist dann, wohl ohne scharfe Grenze, ein zweifacher. Einerseits tritt ein einzelnes kleines, schwach lichtbrechendes Körnchen, „ein lichtglänzender Tropfen“, auf, welcher wächst und an Lichtbrechungsvermögen zunimmt, während das Plasma immer weniger körnig erscheint, weniger dicht wird und zuletzt ganz verschwindet [Prażmowski (54), Brefeld (8), Klein (31), Wahrlich (68), Frenzel (23b)]. Andererseits bildet die Pudderung zuerst einige größere Körnchen, die einzeln als lichtbrechende Tröpfchen zu erkennen sind, und diese wieder unter weiterer gegenseitiger Verschmelzung allmählich einen immer größer werdenden Tropfen, die endgiltige Spore [de Bary (4b), Zopf (72), A. Koch (32), Vignal (66), Buttersack (13), Bunge (11)].

Fast alle diese Untersuchungen sind unter dem Einflusse der beiden klassischen Beschreibungen Prażmowski's und de Bary's entstanden und es ist nicht zu verwundern, wenn sie dann, 10 und mehr Jahre lang immer nur bestätigt, für die Sporenbildung überhaupt allgemeine Giltigkeit erlangten.

Nun haben sich aber seitdem die optischen Hilfsmittel verbessert und hat sich die Zahl der untersuchten Bakterienarten vermehrt, so daß die Hoffnung gerechtfertigt ist, bei einer passenden Auswahl beider unsere Kenntnis von dem Werden und Bau der Spore allmählich erweitern zu können.

In Band XV der Arbeiten aus dem Kaiserlichen Gesundheitsamte habe ich 3 Arten von Bacilli granulosi vorgestellt und meine Untersuchungen über deren körnigen Inhalt niedergelegt; die „Körnerfrage“ war damals aktuell wegen ihrer differentialdiagnostischen Bedeutung [z. B. echte und unechte Diphtheriebacillen, Neißer (47)]. Wie aus den genau angegebenen und gezeichneten Maßverhältnissen ersichtlich, sind die Sporen groß und wegen ihrer Differenzierung interessant, die sporenähnlichen Gebilde (Körner) in der Regel so deutlich, daß man jedes einzelne mühlos erkennen und zählen kann, und sogar manchmal von einem Durchmesser, wie ihn die kleineren Bakterien kaum besitzen. Es lag also nahe, dieselben Bakterien auch zum Gegenstand von Sporenuntersuchungen zu nehmen.

Als Apparat benutzte ich einen mit einem Thermoregulator versehenen Wärmekasten, der das Mikroskop aufnahm. Zur Nährsubstanz wählte ich Bouillon und nach dem Vorgang Grethe's (24) Bouillon mit Agarzusatz, durch welchen die Bacillen der beweglichen Art fixiert wurden. Die Beobachtung der Sporenbildung geschah bei der Temperatur des Sporenoptimums (27—30°).

Zur rascheren Orientierung will ich zunächst in gedrängter Kürze rekapitulieren, was für Vorgänge sich im lebenden, ungefärbten Präparate sichtbar abspielen:

Bereits 5 Stunden nach dem Ausschlüpfen, auf den Agarparallelkulturen schon $3^1/_2$ Stunden nach der Sporenaussaat (also in 1—2 Stunden alten Stäbchen, da, wie ich nachwies, $1^1/_2$—2 Stunden auf die Zeit zwischen Aussaat und erster Teilung fallen), sieht man allmählich eine Differenzierung des Protoplasten zu Tage treten: eine

ganz schwach angedeutete netzartige Struktur (Fig. 1 *i* [1]). Bei hohem Stand der Linse sind die Linien mehr oder weniger dunkelgrau wie die Stäbchenmembran; die Zwischenräume heller, beim Tieferschrauben ebenfalls grau. Während sich in den meisten Fällen diese Differenzierung unmerklich gleich über das ganze Stäbchen legt, tritt in anderen, besonders bei Bac. gran. immob. *β*, eine helle, runde Stelle nach der anderen auf, ohne jedesmal den ganzen Flächenraum in ihr Bereich zu ziehen. Allmählich tritt die Netzzeichnung deutlicher hervor. Das Innere der Maschen macht den Eindruck einer dichteren Substanz; es wird lichtbrechend, hat aber noch keine scharfe Begrenzung (Fig. 1 *k*). Erst nach einigen Stunden hat es ein vollkommen schwarz und weiß karriertes Aussehen angenommen (Fig. 1 *l*); bei genauerer Betrachtung sieht man eine Menge zwar noch nicht scharfgeränderter, aber doch deutlich kugeliger Gebilde, welche das ganze Innere der Zelle ausfüllen, und dadurch, daß sie in verschiedenen Höhen liegen, als stark lichtbrechende Körper bald hell, bald dunkel erscheinen; sie sind bereits zu zählen: je nach der Größe 10—25 Stück.

Bei den Sporenbildnern nun wird nach und nach, sich an einen Pol anlehnend, eine graue glanzlose Masse sichtbar, die beim beweglichen Körnerbacillus etwa die Hälfte, beim unbeweglichen *α*-Bacillus etwa $^1/_2$—$^1/_3$ und beim *β*-Bacillus oft nur $^1/_8$ des Raumes einnimmt; diese glanzlose Masse bringt alle in ihr Bereich fallenden Kügelchen allmählich zum Verschwinden, wie wenn sie sie auflösen würde; sie ist etwa 1—1$^1/_2$mal so lang als breit und geht ohne deutliche Grenze in die Stäbchenmembran und in das anliegende Bereich der Kügelchen über; die letzteren füllen den übrigen Raum der Zelle, betragen aber nur noch 4—8 Stück (Fig. 1 *m*). Nach und nach nimmt die graue Masse einen grünen Schimmer an und umgiebt sich mit einer hellwerdenden Zone, innerhalb welcher eine unmerkliche Scheidung des verdichteten Plasmas, woraus die graugrüne Masse besteht, und der Stäbchenmembran stattfindet. Die Kügelchen bekommen währenddessen einen scharfen Rand und vollen Glanz auf Kosten des verschwindenden Cytoplasmas (Fig. 1 *n*). Die grünschimmernde Masse wird nun ebenfalls konturiert und bildet ein der Längsachse des Stäbchens gleichgerichtetes Oval von starker Lichtbrechung, welches nur durch einen schmalen Raum von der Stäbchenmembran getrennt ist. Dies Oval ist die junge Spore (Fig. 1 *o*).

Von den früheren, eingangs erwähnten Schilderungen ist demnach diese Weise der Sporenbildung insofern verschieden, als abgesehen von der viel deutlicheren Körnerbildung, von einem irgendwie „wachsenden Tropfen" nichts zu sehen ist, dagegen wie ein Nebel sich über den für die Sporenbildung bestimmten Bereich ein grauer Fleck lagert, der von vornherein annähernd die Größe der späteren Sporen hat und die Kügelchen zum Verschwinden bringt, indem dieselben gewöhnlich zuerst an Glanz und hernach immer mehr an Deutlichkeit ihrer Umrisse verlieren.

---

1) Die Figuren befinden sich auf Tafel III. Bd. XV der Arbeiten aus dem Kaiserl. Gesundheitsamt.

Ich konnte in der Litteratur nur zwei Autoren finden, die einen ähnlichen, von den allgemein giltigen Anschauungen abweichenden Vorgang beobachtet haben. Es sind Peters (49), der vor 10 Jahren an seinem Bacillus ε bei vorhandener Körnelung eine dem Pole anliegende Plasmabrücke und später eine an deren Stelle erscheinende gleich große Spore bemerkte, und A. Meyer (39), der kürzlich eine derartige Erscheinung bei Bac. tumescens, dessen Sporenbildung bisher immer derjenigen des Bac. megatherium gleichgesetzt wurde, wahrnehmen konnte: es hellt sich die eine Hälfte des aus größeren und kleineren Körnchen bestehenden „Cytoplasmas eines Sporangiums" völlig auf, wird körnchenfrei, während die andere Hälfte körnchenreich bleibt. Aus dem bald etwas stärker lichtbrechend werdenden fertilen Cytoplasma des Sporangiums, in welchem man einen Kern nachweisen kann, gliedert sich die Spore unter Entstehung einer zarten Grenzlinie sogleich in ihrer definitiven Größe ab, stets homogenes Plasma neben sich lassend. Die Sporenanlage wird dann stärker lichtbrechend und hebt sich so schärfer von dem umgebenden Cytoplasma ab, in welchem nun auch wieder ergastische Körnchen auftreten. Später umgiebt sich die Spore mit einer „Membran". Aehnlich ist der Vorgang der Sporenbildung bei der von demselben Forscher aufs genaueste studierten, statt der lichtbrechenden Körner jedoch axile Vakuolen enthaltenden Ast. asterospora. Sonst wird überall der Uebergang der Kügelchen in die Sporen mit kurzen Worten abgethan.

Wenn man die Spore so vor sich entstehen sieht, wie ich es oben geschildert, bekommt man sozusagen schon das Gefühl, als ob im Innern der Zelle, speziell der Sporenanlage, wichtige Veränderungen vorgehen müßten.

In dem Schlußsatz 4 meiner ersten Arbeit habe ich bereits die Notwendigkeit der Annahme ausgesprochen, daß die Körner zum Aufbau der Spore Verwendung finden. Ich stützte mich dabei zunächst auf die Thatsache, daß an derselben Stelle, wo die Spore entsteht, alle noch so deutlichen und stark lichtbrechenden Kügelchen verschwinden. Dieses Verschwinden geht zwar allmählich, aber doch in ziemlich kurzer Zeit vor sich, und zwar so, wie wenn die Kügelchen aufgelöst würden: ihr Glanz nimmt ab, ihre Umrisse verschwimmen, schließlich bilden sie mit dem dazwischen liegenden Plasma, dem Füllsel, eine gleichmäßig graue, allmählich schimmernde Masse.

Die Ansicht, daß bei diesem Vorgang ohne weiteres ein „Zusammenfließen der größeren Kügelchen" statthabe, kann ich nicht teilen, weil es zu unwahrscheinlich ist, daß die verdichteten Plasmaballen — als solche sind die Kügelchen abzufassen — die sehr beständig sind und sich weder durch Kochen noch durch eine halbjährige Austrocknung verändern, auf einmal einfach die physikalischen Eigenschaften von flüssigen Tröpfchen annehmen.

Ich habe vielmehr die Ueberzeugung gewonnen, daß es sich um eine Vereinigung bezw. Wechselwirkung von zwei verschiedenen Molekularsystemen handelt, die sich in den Kügelchen einerseits, in dem Füllsel (interstitiellem Plasma)

andererseits repräsentieren. Das Eingehen dieser Vereinigung wird ausgelöst entweder selbstthätig, sobald ein gewisser Grad in der Affinität erreicht ist, oder durch ein auf beide Systeme wirkendes Agens, einen Kern. Ich füge gleich hinzu, daß mir der letztere Modus wahrscheinlicher dünkt.

Es ist ein heißumstrittenes Gebiet, diese Kernfrage. So schwer es ist, sich eine Vorstellung davon zu machen, wie eine lebensthätige Zelle bloß aus einem Kern bestehen sollte, ohne jenes Protoplasma, das als der Sitz der Ernährung, als „die Küche der Zelle“ (Duclaux) angesehen wird, so hat dieser Gedanke doch Anhänger gefunden. Wahrlich (68) und Löwit (36) halten den ganzen Bakterienprotoplasten für einen Zellkern, Bütschli (10) und Schewiakoff (57) für einen mit einem Kern vergleichbaren Centralkörper, nicht zuletzt wegen seiner Farbenreaktion. Allerdings bringt die Empfänglichkeit für basische Anilinfarben die Bakterien dem Stoffe nahe, der den Kern gewöhnlicher Zellen, tierischer und pflanzlicher, bildet, ein Umstand, der schon Hueppe (26a) und Klebs (30) veranlaßte, die Bakterien mit der Kernsubstanz höherer Zellen zu vergleichen. Neuerdings gewinnt jedoch die Anschauung mehr und mehr Boden, daß es keine „Kernfarbstoffe“ giebt.

Weigert (69) und Mitrophanow (41) meinen, daß so tiefstehende Wesen, wie die Bakterien, eine morphologische Differenzierung des Protoplasmas vom Karyoplasma noch nicht besitzen, vielmehr beide noch untereinander gemischt sind. Was Schottelius (59) als Zellkern ansah, waren anscheinend Vakuolen; Trambusti und Galeotti (65) hatten gefärbte Membranpartieen vor sich, Sjöbring (61), Wager (67) u. A. waren ebenfalls vergeblich bemüht, die Frage nach dem Zellkern zu lösen.

Seitdem aber bei einer großen, früher für kernlos gehaltenen Anzahl von Organismen, insbesondere Protozoen, ein Kern konstatiert werden konnte, steht zu hoffen, daß auch bei den Bakterien ein solcher noch gefunden wird. Ein versprechender Anfang ist ja bereits von A. Mayer (39) gemacht, dem es gelang, mittels Jod oder Rutheniumrot in den Schwärmern, Ruhestäbchen und Sporenanlagen von Ast. asterospora einen Zellkern zu entdecken, der ein auffallend ähnliches Verhalten mit demjenigen der Eumyceten zeigt. Seine Befunde harren noch weiterer Bestätigung.

An den Körnerbacillen konnte ich mit denselben Reagentien nichts Kernartiges finden, wohl aber bei Zufließenlassen von sehr verdünnter Methylenblaulösung ab und zu wahrnehmen, daß nach $^1/_4$—$^1/_2$ Stunde sich zuerst eine Stelle färbt, die zur Zelle etwa im selben Verhältnis steht, wie der Pilzkern zu den Hyphen. Es kam aber doch zu selten vor, als daß ich diese Erscheinung verallgemeinern könnte, und es ist nicht ausgeschlossen, daß es sich um eine Stelle in der Zelle handelte, die sich eben aus irgendwelchem zufälligen Grunde stärker färbte.

Konnte ich bei den Körnerbacillen auch keinen Kern sicher nachweisen, so mußte ich doch angesichts der Lebensäußerungen, die ich an ihnen beobachten konnte, die Ueberzeugung gewinnen, daß ein solcher vorhanden ist, und zwar nicht in Gestalt des ganzen Proto-

plasten — denn es will mir unwahrscheinlich dünken, daß ein Kern ohne Cytoplasma, ebenso ein Cytoplasma ohne Kern, dieselben physiologischen Leistungen auszuführen fähig ist, wie sonst Kern und Cytoplasma zusammen — sondern in Form eines zu dem Ganzen in dem gewöhnlichen Kernverhältnisse stehenden Gebildes. Ist aber ein Kern vorhanden, so ist auch dessen Beteiligung bei der Sporenbildung gesichert.

Sind am Zustandekommen der Sporenanlagen nur zwei Faktoren beteiligt, so kann es sich naturgemäß nur um die Kügelchen und um das Füllsel handeln. Diese sind auch, wie schon im hängenden Tropfchen ersichtlich, voneinander verschieden und relativ abgeschlossen; durch Zusatz von Methylenblau kommt dies noch besser zum Ausdruck, indem sich die Kügelchen gar nicht, das Füllsel aber stark färbt. Die schlankeren, blauen Stäbchen sehen dann aus wie mit einem Locheisen durchschlagen. Die breiteren zeigen in verschiedenen Höhenlagen ganz helle, runde Stellen. Zwischen diesen ziehen sich die lebhaft blau gefärbten Partieen des interstitiellen Plasmas hin, so daß ein Bild entsteht, das an den „Wabenbau" Bütschli's erinnert.

Das Bild erweckte den Anschein, als ob ein solcher Wabenbau der dichten Wände oder Lamellen halber geeignet wäre, einen Austausch der Kügelchen unter sich überhaupt unmöglich zu machen. Es dürfte daher zur Aufklärung ein näherer Vergleich dieses Bildes mit dem Wabenbau angezeigt erscheinen, zumal da diese Struktur, zuerst von Bütschli an dem Protoplasten von Cyanophyceen und größeren Bakterien gefunden, bereits von verschiedenen Forschern, wie Zacharias (71b) (nur für den Centralteil), Palla (48) (nur für die periphere Schicht), Nadson (44) und Apathy (2) (für den ganzen Protoplasten) bestätigt wurde. Fischer (21b) dagegen deutet sie als plasmolytischen Ausdruck; Berthold (6) und Schwarz (60) glauben überhaupt alle Plasmastrukturen bestreiten zu müssen, in der Ansicht, daß das Plasma, wenigstens seiner Hauptsache nach, Flüssigkeit sei, und solche Strukturen, wie sie ihm zugeschrieben würden, von flüssigen Substanzen nicht gebildet werden könnten.

Doch Bütschli (10b u. c) bewies die Möglichkeit mittels eines Breies von Olivenöl und Kaliumkarbonat und mit Wasser bezw. verdünntem Glycerin. Er erhielt sehr feine Schäume, die manchmal nur mit der stärksten Immersion zu erkennen waren, und, wenn sie etwas gepreßt wurden, sogar lebhaft zu strömen begannen. Dementsprechend verhält sich nach ihm die wabige Struktur der Zelle: die Zwischenflüssigkeit, das eigentliche Protoplasma, ist in so geringer Menge, daß sie zwischen den Tropfen der anderen Flüssigkeit nur feine Lamellen bildet, und daher unter der Wirkung der Oberflächenspannung dieselben gesetzmäßigen Anordnungen dieser Lamellen entstehen, wie sie die Seifenwasserlamellen im Seifenschaum zeigen.

Auf die Körnerbacillen angewendet, ist man auf den ersten Blick versucht, Bütschli's Anschauungen zu bestätigen; erst bei genauer Prüfung zeigt es sich, daß der lebende Protoplast streng genommen keinen wabigen Bau hat. Das interstitielle Plasma ist gegenüber den feinen Wabenlamellen zu dick; und setzt man voraus, daß das

Plasma, als schleimige und gerinnbare Substanz, sich in einen flüssigen und in einen zähklebrigen Teil spaltet [Duclaux (17)], so entspricht bei der Wabenstruktur der flüssige Teil dem Inhalt, der, ursprünglich ein Tropfen, seine Form der Widerstand leistenden Umgebung anpaßt. Bei den Körnerbacillen aber habe ich nie gesehen, daß die Tropfen ihre sphärische Form verloren hätten; haben sie doch sichtlich eine kompakte Beschaffenheit und die Zwischenmasse eine flüssige. Der Unterschied läßt sich sehr deutlich wahrnehmen, wenn man, wozu allerdings eine gewisse Uebung und eine große Geduld gehört, kügelchenreiche Stäbchen unter dem Mikroskop ausdrückt. Der Zellinhalt zerfällt, die frei gewordenen Kügelchen bleiben rund, hellgrau glänzend und scharf begrenzt, oder sind, was meistens der Fall ist, mit Fetzen vom Plasma behangen, soweit dieses nicht aufgelöst wurde. Wohl werden in älteren Stäbchen, in denen sich keine Sporen bildeten, die Kügelchen zwischen Plasmabändern gehalten; doch sind in diesem Falle die letzteren nicht als Lamellen nach Bütschli aufzufassen, sondern nur als Gerinnsel der zerfallenden Plasmazwischenlage.

Wenn es in einem Stäbchen nicht zur Sporenbildung kommt, so kann die Schuld daran liegen, daß die Wechselwirkung infolge eines graduellen oder zeitlichen Mißverhältnisses in der Affinität der beiden Organe ausbleibt, vielleicht auch daran, daß der Kern fehlt. Jedes der beiden Organe geht dann seinen Weg. Die Kügelchen nehmen noch vom interstitiellen Plasma Nährstoffe auf (sie werden stark lichtbrechend), dann wird die Verbindung mit demselben gehoben (sie erhalten einen haarscharfen Rand); das Füllsel wird durchscheinend, wässerig, gerinnt soweit noch möglich, seine zarten Fäden werden locker, reißen und die Kügelchen werden frei. Dann haben wir jene eigenartige Erscheinung vor uns, wo die Kügelchen unaufhörlich hin und herflattern, von einer Wand an die andere geworfen, bis sie schließlich durch Zerfall der Stäbchenmembran frei werden; etwaige feine, graue Flöckchen sind als noch im Zusammenhang gebliebene Plasmareste zu deuten.

Hat, trotzdem keine Körnelung vorausgegangen ist, eine Sporenbildung stattgefunden, wie es von A. Koch (32) bei Bac. carotarum und von L. Klein (31) beobachtet wurde, so sind meiner Ansicht nach die beiden hierzu bestimmten Substanzen gleichfalls vorhanden, nur nicht so sichtbar geformt, wie das Füllsel und die Kügelchen, sondern sehr fein verteilt. Ich stütze mich dabei auf die Beobachtung, daß gerade die Bac. granulosi, bei denen die Körnerbildung typisch ist, die also das „Zeug“ dazu in sich haben, manchmal, besonders im Agar-Auspressungswasser, als vollkommen homogene Stäbchen Sporen bilden. Die Kugeln selbst sind also zur Sporenbildung als solche nicht unbedingt erforderlich, sehr wahrscheinlich aber eine der ihrigen mehr oder weniger ähnliche Substanz.

(Schluß folgt.)

Nachdruck verboten.

Ueber die Wirkung des Benzylsenföls auf das Wachstum des Kahmpilzes.

Von **M. W. Beijerinck.**

Gelegentlich einer Besprechung der Glukoside und Enzyme der Spiräen in diesem Centralbl. 2. Abt. Bd. V. 1899. p. 429 habe ich über einige Erfahrungen berichtet in Bezug auf die außerordentlich kräftige Wirkung des flüchtigen Oels der Kapuzinerkresse (Tropaeolum majus) auf das Wachstum des Kahmpilzes (Saccharomyces mycoderma). Ich habe gesagt, daß ich Gadamer's Ansicht, nach welcher dieses Oel Benzylsenföl ist, nicht beipflichten konnte, daß dasselbe sich beim Destillieren teilweise zersetzte unter Schwefelabspaltung, und vielleicht ein Oxybenzylsenföl darstellen könnte.

Nach erneuten Untersuchungen, welche Herr H. ter Meulen auf meine Veranlassung begonnen, hat Gadamer jedoch vollständig recht, und sind meine Bemerkungen unbegründet.

Sowohl Kapuziner- wie Gartenkresse (Lepidium sativum) enthalten ein und dasselbe Glukosid, welches, wie Gadamer richtig angiebt, mit Myrosin gewöhnliches Benzylsenföl abspaltet. Dieses natürliche Benzylsenföl ist identisch mit dem synthetisch dargestellten und kann bei der nötigen Vorsicht unzersetzt destilliert werden. Herr ter Meulen hat durch quantitative Schwefelbestimmungen festgestellt, daß auch die Wirkung des natürlichen Oels auf das Wachstum von Mycoderma identisch ist mit demjenigen des synthetischen. Ein Milligramm von beiden Präparaten ist zureichend, um das Wachstum des Kahmpilzes in 100 ccm Bier vollständig aufzuheben.

22. Dezember 1899.

Nachdruck verboten.

Die Bedeutung der Milchsäurefermente für die Bildung von Eiweisszersetzungsprodukten in Emmenthalerkäsen,

nebst einigen Bemerkungen über die Reifungsvorgänge.

Von **Ed. v. Freudenreich** und **Orla Jensen.**

(Fortsetzung.)

Zweitens zeigte es sich, daß in allen mit den ausgewählten Milchsäurefermenten geimpften Käsen schon durch den Geschmack deutliche Reifungserscheinungen wahrzunehmen waren, während dieses bei den übrigen Käsen nicht oder nur in weit geringerem Maße der Fall war. Dieses beweist, daß die von den Milchsäurefermenten gebildeten Zersetzungsprodukte wohl die richtigen, zur Reifung gehörenden sind und nicht etwa andere als diejenigen, die in normal gereiften Käsen gefunden werden.

Eine dritte ziemlich auffällige Thatsache, die auf den ersten Blick nicht zu Gunsten der Milchsäurefermente zu sprechen scheint, liegt in dem Umstande, daß gerade die nicht geimpften Versuchskäse am meisten löslichen Stickstoff enthalten[1]). Dieses scheint anzudeuten, daß die Ueberführung des Caseïns in lösliche Proteïnstoffe wenigstens zum Teil von anderer Ursache herrührt, als von den Milchsäurefermenten, und daß diese hauptsächlich die Fähigkeit besitzen, die löslichen Proteïnstoffe weiter zu ersetzen. Die Resultate einer späteren Versuchsserie (Käse aus stark erhitzter Milch) werden jedoch beweisen, daß die Milchsäurefermente im Käse ähnlich wie in Milch nicht nur weitere Zersetzungsprodukte bilden können, sondern auch lösliche Proteïnstoffe.

Vorläufig wollen wir untersuchen, wie man sich die Thatsache erklären kann, daß die Kontrollkäse aus pasteurisierter Milch überhaupt löslichen Stickstoff und sogar mehr von demselben enthalten als die geimpften Käse.

Zunächst zeigten orientierende Versuche, daß diese Lösung des Caseïns in der That schon sehr früh beginnt. So können z. B. erst 3 Tage alte Kontrollkäse bereits über 7 Proz. löslichen Stickstoff enthalten.

Man könnte sich nun zwei mögliche Ursachen denken. Entweder könnte dieses Löslichwerden des Caseïns einem bakteriellen Vorgang zuzuschreiben sein, wie etwa der Entwickelung verflüssigender Bakterienarten, so z. B. Tyrothrix-Bacillen oder Bacillus 1, die durch die Pasteurisierung nicht abgetötet werden, oder sie könnte mit der Gegenwart der von Babcock und Russell[2]) näher beschriebenen natürlichen Enzyme der Milch zusammenhängen. Bekanntlich haben diese Forscher gezeigt, daß in Milch, welche durch Zusatz von Aether bakteriellen Einwirkungen entzogen wird, mit der Zeit eine Lösung des Caseïns stattfindet, die nur in der Gegenwart unorganisierter Enzyme ihre Erklärung finden soll.

Was erstere Hypothese anbelangt, so hat schon der Eine von uns in früheren Arbeiten nachgewiesen, daß verflüssigende Bakterien, Käsen aus pasteurisierter Milch selbst in großer Zahl zugesetzt, in denselben eine allmähliche Abnahme erleiden, die oft bereits nach 8—10 Tagen sich bemerkbar macht. In Käsen aus nicht pasteurisierter Milch war diese Abnahme noch rascher. Man könnte sich aber denken, daß vielleicht in den allerersten Tagen nach der Fabrikation, zu einer Zeit, in welcher diese ausgesprochen aëroben Bakterien noch günstige Entwickelungsbedingungen vorfinden — genügend hohe Temperatur, Abwesenheit anderer konkurrierender Bakterien, noch nicht völliger Luftabschluß — eine starke Vermehrung solcher Bakterien stattfindet, und die eintretende Lösung des Caseïns auf die Wirkung der von ihnen gebildeten Enzyme zurückzuführen sei.

Um diese Frage zu lösen, wurden nun eine Anzahl Versuchskäse

---

1) Nur Versuch 1 macht eine Ausnahme in dieser Beziehung. Dieses hat aber nichts zu sagen, da dieser Versuch, in welchem beide Käse ganz steril befunden wurden, überhaupt als mißlungen zu betrachten ist.

2) Babcock und Russell, 14. Report of the Wisconsin Agricultural Experiment Station.

zunächst aus pasteurisierter Milch, dann aber auch aus solcher, die nicht pasteurisiert war, hergestellt und von Anfang an bakteriologisch untersucht.

Wir lassen die Resultate hier folgen:

Käse vom 9. November 1898 (pasteurisierte Milch):

Nach 1 Tag	250000 verflüssigende Bacillen per Gramm
„ 3 Tagen	rasche Verflüssigung der Platten, also wohl Vermehrung der verflüssigenden Bacillen
„ 9 „	200000 Kolonieen von Bacillus 1 (wohl identisch mit Bacillus megaterium)
„ 21 „	Nur das Bact. lactis acidi
„ 40 „	1000 Kolonieen von Bacillus 1 per Gramm nebst sehr vielen Kolonieen des Bact. lact. acidi

Käse vom 1. Dezember 1898 (pasteurisierte Milch):

Am 1. Tage	12500 verflüssigende Bacillen per Gramm
Nach 5 Tagen	3125000 Kolonieen von Bacillus 1 per Gramm
„ 8 „	737000 „ „ „ „ „
„ 15 „	200000 „ „ „ „ „

Käse vom 8. Dezember 1898. In diesem Versuche wurde gleichzeitig ein Käse aus nicht pasteurisierter Milch hergestellt und in gleicher Weise untersucht.

Käse aus pasteurisierter Milch:	Käse aus nicht pasteurisierter Milch:
Am 1. Tage keine verflüssigende Bacillen	9000 Kol. Bac. 1 p. Gr., dazu B. lact. ac.
Nach 2 Tagen 5000000 Kol. Bac. 1 p. Gr.	2500 „ „ „ „ „ „ „ „
„ 7 „ 3750000 „ „ „ „	7250 „ „ „ „ „ „ „ „
„ 22 „ 1000 „ „ „ „	Nur das Bact. lact. acidi.
Viele Kol. des Bact. lact. acidi.	

Wie man sieht, hat in dem Käse aus nicht pasteurisierter Milch das Bact. lact. acidi gleich die Oberhand gewonnen und ein Aufkommen des Bacillus 1 verhindert.

Käse vom 12. Dezember 1898. Von zwei aus pasteurisierter Milch hergestellten Käsen war der eine mit den Bacillen α und ε geimpft worden.

Ungeimpfter Käse:	Geimpfter Käse:
Am 2. Tage 150 Kolonieen Bac. 1 per Gramm	—
Nach 4 Tagen 2062500 Kol. Bac. 1 per Gramm	Nur α u. ε, keine verfl. Bacillen
„ 18 „ 3843750 „ „ „ „	desgl.
„ 46 „ 128750 „ „ „ „ dazu viele Kol. des Bact. lact. ac.	desgl.
„ 66 „ Nur das Bact. lact. acidi.	desgl.

Auch hier zeigt es sich, daß die Gegenwart von Milchsäurefermenten das Aufkommen der verflüssigenden Bacillen verhindert. Auch war der ungeimpfte Käse trotz der anfänglichen starken Vermehrung dieses verflüssigenden Mikroorganismus dem Geschmacke nach nicht gereift.

Käse vom 27. Januar 1899. Dieser Käse, der eigentlich zu einer anderen Versuchsserie gehörte, von der wir gleich sprechen werden — Käse aus stark erhitzter Milch unter Zusatz von Chlorcalcium — wurde zunächst einige Tage in der Kälte aufbewahrt, weil der Teig zu weich geworden war.

Nach 2 Tagen enthielt er	24 000	Bacillus 1 per Gramm
„ 18 „ „ „	40 000	„ „ „
„ 32 „ „ „	0	Kolonieen von Bacillus 1 auf den Gelatineplatten

Hier bemerken wir keine große Vermehrung des Bacillus 1 in den ersten Tagen, was wohl dem Umstande zuzuschreiben ist, daß die Käse einige Tage bei niedriger Temperatur gehalten wurden. Nach dieser Zeit waren infolge Festwerdens der Käsemasse aërobe Bedingungen nicht mehr vorhanden und Bacillus 1 konnte sich nicht mehr reichlich entwickeln.

Käse vom 21. April 1899, aus pasteurisierter Milch hergestellt.

Ganz frische Käsemasse: höchstens 10 verflüssigende Bacillen per Gramm

Nach 1 Tag	187 500	Bacillus 1 per Gramm	
„ 3 Tagen	12 500 000	„ „ „	
„ 6 „	100 000	„	und 200 000 verfl. Bac. anderer Art per Gr.
„ 10 „	312 500	„	per Gramm. Dazu Milchsäurefermente
„ 15 „	175 000	„	„ „ „ „
„ 31 „	100 000	„	„ „ „ „

Käse vom 25. April 1899. Im Gegensatze zu den anderen Käsen wurde dieser aus gewöhnlicher, nicht pasteurisierter Milch hergestellt. Wie in den aus pasteurisierter, mit Milchsäurefermenten geimpfter Milch hergestellten Käsen sieht man, daß hier infolge der Konkurrenz der Milchsäurefermente eine Entwickelung verflüssigender Bacillen ganz ausbleibt.

Die bakteriologische Analyse ergab folgende Resultate:

Nach 1 Tag	Nur Milchsäurefermente und ein verflüssigender, stets in Milch vorhandener Coccus.
„ 3 Tagen	Dasselbe
„ 6 „	Dasselbe
„ 10 „	Nur Milchsäurefermente
„ 15 „	„ „ und der verflüssigende Coccus
„ 31 „	„ „ „ „ „ „

Der hier erwähnte verflüssigende Coccus ist in frischer Milch und in frischen Emmenthalerkäsen stets gegenwärtig; jedoch verschwindet er bald aus letzteren, so daß man ihn nach 10—14 Tagen gewöhnlich nicht mehr findet. Hin und wieder ist er noch nach Wochen nachweisbar. Es wäre immerhin nicht unmöglich, daß seine peptonisierende Wirkung einen gewissen Einfluß auf das Löslichwerden des Caseïns hätte. Ueber diesen Punkt werden spätere Untersuchungen mehr Licht bringen.

Die erhaltenen Resultate bestätigen insofern die in früheren Arbeiten angeführten Ergebnisse, als sie zeigen, daß die verflüssigenden Bakterien in Hartkäsen auf die Dauer keinen günstigen Boden finden und daher ziemlich rasch an Zahl abnehmen. Besonders wenn Milchsäurefermente vorhanden sind, scheinen sie gar nicht aufkommen zu können. In Käsen aus pasteurisierter Milch freilich konnte in einigen Fällen eine oft sehr starke Vermehrung in den allerersten Tagen nach der Fabrikation konstatiert werden; aber auch hier folgt dieser anfänglichen Vermehrung eine rasche Abnahme. Immer handelte es sich um den mit Bacillus Megaterium identischen Bacillus 1, der in Milch und frischem Käse häufig angetroffen wird. Für seine Entwickelung scheinen indessen besondere Bedingungen vorliegen zu

müssen. So z. B. fand keine Vermehrung statt in dem Versuche vom 27. Januar 1899, in welchem der Käse zunächst ein paar Tage in der Kälte bei sehr niedriger Temperatur blieb. Selbst als er nachher bei höherer Temperatur aufbewahrt wurde, trat keine wesentliche Vermehrung desselben ein.

Es fragt sich nun, ob der in den ungeimpften Kontrollkäsen aus pasteurisierter Milch konstatierte höhere Gehalt an gesamtem löslichem Stickstoff auch wirklich mit einer anfänglichen Vermehrung verflüssigender Bacillen im Zusammenhange steht?

Um diese Frage zu beantworten, müssen wir vor allem die allmähliche Lösung des Caseïns in Käsen aus pasteurisierter und nicht pasteurisierter Milch, resp. in mit Milchsäurefermenten geimpften Käsen, d. h. in solchen mit anfänglicher Vermehrung verflüssigender Bakterien und solchen ohne Vermehrung derselben, näher verfolgen.

Beifolgende Tabelle zeigt die Resultate der bei einzelnen der eben beschriebenen Versuche vorgenommenen chemischen Analyse.

	Käse vom 21. April 1899, aus pasteur. Milch. Starke Vermehrung der verflüssigenden Bacillen		Käse vom 9. Nov. 1898, aus pasteur. Milch. Vermehrung der verflüssigenden Bacillen		Läse vom 25. April 1899, aus nicht pasteur. Milch. Keine Vermehrung verflüssigender Bacillen	
	Gesamter löslicher Stickstoff	Amidstickstoff	Gesamter löslicher Stickstoff	Amidstickstoff	Gesamter löslicher Stickstoff	Amidstickstoff
	in Prozenten des Gesamtstickstoffes					
Nach 1 Tage	4,72	0,32	4,78	—	3,24	0,38
„ 3 Tagen	—	—	7,30	1,47	4,81	0,58
„ 6 „	9,56	0,43	—	—	8,26	0,93
„ 9 „	—	—	11,26	2,55	—	—
„ 10 „	11,17	0,52	—	—	9,18	0,85
„ 15 „	13,59	0,56	—	—	11,31	1,03
„ 21 „	—	—	14,39	2.68	—	—
„ 31 „	16,33	1,02	—	—	21,04	1,60
„ 40 „	—	—	17,02	2,57	—	—

Die ersten Käse dieser Tabelle sind solche, in welchen eine anfängliche Vermehrung verflüssigender Bacillen stattgefunden hatte; in dem letzten war dieses nicht der Fall gewesen. Was sehen wir nun? In allen zeigt sich eine gleich anfangs beginnende und immer weitergehende Lösung des Caseïns. Die am 1. Tage erhaltenen Zahlen freilich sind noch nicht im Sinne einer bereits eingetretenen Lösung zu deuten, denn auch für die ganz frische Käsemasse findet man ähnliche Zahlen, so z. B. für den ersten Käse fanden wir 5,05 Proz. löslich N gleich nach seiner Herstellung, was auf die Gegenwart der eingeschlossenen Molke zurückzuführen ist, daher auch für die frische, noch nicht gepreßte Käsemasse die Zahl etwas höher ist als für den einen Tag alten Käse. Aber bereits nach 3 Tagen sehen[1]) wir die Lösung Fortschritte machen. Es deutet dieses darauf hin, daß eine gemeinsame Ursache vorliegen muß, und vorläufig glauben wir die-

1) Man darf diese Resultate nicht auf in herkömmlicher Weise hergestellte Emmenthalerkäse ausdehnen, weil letztere anfänglich 14 Tage bei niedriger Temperatur aufbewahrt werden.

selbe in der Gegenwart der oben erwähnten natürlichen Milchenzyme, welche durch Temperaturen bis gegen 70° nicht abgetötet werden, suchen zu müssen. Um den Einfluß der letzteren genauer zu präzisieren und um gleichzeitig festzustellen, ob die Milchsäurefermente oder auch die verflüssigenden Bacillen eine Lösung des Caseïns herbeiführen können, und zwar ohne Mitwirkung der natürlichen Enzyme, wurde noch eine Reihe von Versuchen gemacht, in denen die Milch, um die natürlichen Enzyme abzutöten und daher deren Einfluß auszuschalten, nicht bloß bei 68—69° pasteurisiert, sondern bis auf 85—90° erwärmt wurde. Eine solche Milch läßt sich indessen nicht ohne weiteres verkäsen, denn nach Anwendung so hoher Temperaturen gerinnt bekanntlich die Milch bei Labzusatz nicht oder nur schlecht. Die Gerinnung erreicht man jedoch, wenn man, wie Duclaux gezeigt hat, der erhitzten Milch etwas Chlorcalcium zusetzt[1]). Auch Klein und Kirsten[2]) in ihren Versuchen über die Verwendbarkeit erhitzter Milch zu Käsezwecken haben sich des gleichen Verfahrens bedient. In unseren Versuchen betrug der Chlorcalciumzusatz 0,2 Proz. $CaCl_2 + 6\,H_2O$. Wir müssen jedoch bemerken, daß trotz dieses Zusatzes die Milch nicht in normaler Weise gerinnt, indem sie nicht mehr die gewohnte feste Konsistenz erhält. Die Käse geben die Molken nur schlecht ab und werden deshalb sehr schmierig (weichkäseartig) und später sehr trocken; ein solches Erhitzen der verkäsenden Milch ist daher für die Herstellung von Hartkäsen unbrauchbar[3]). Auch das Caseïn selber wird durch dieses Verfahren zu einem weniger günstigen Nährboden für die Milchsäurefermente, welche in dieser Beziehung ziemlich wählerisch zu sein scheinen, gestaltet, Die folgenden Versuche sind daher nicht in jeder Beziehung als vollständig gelungen zu betrachten; sie können uns jedoch über manche Punkte Aufklärung verschaffen. (Siehe Tabelle p. 78.)

Aus dieser Versuchsreihe ergeben sich wichtige Daten. Erstens sehen wir, daß die ungeimpften Kontrollkäse ebenso wie diejenigen mit Tyrothrix tenuis-Sporen geimpften nur die schon in ganz frischen Käsen vorhandene Menge löslichen und Amidstickstoffes enthalten. Es scheint dieses dafür zu sprechen, daß die hier abgetöteten, natürlichen Enzyme in den früheren Versuchen in der That eine Rolle spielten. Sehr wichtig für die Frage, ob die Tyrothrix-Bacillen an dem Reifungsprozeß teilnehmen, ist Versuch 2. Aus demselben ergiebt sich, daß die eingeimpften Sporen sich kaum entwickelten, und daß eine Reifung nicht eintrat.

Versuch 3 sollte dazu dienen, zu zeigen, ob Bacillus 1 bei eintretender Vermehrung das Caseïn auch in Abwesenheit natürlicher

1) Dasselbe Resultat erhielt Schaffer bei Durchführung von Kohlensäure. (Landwirtschaftl. Jahrbuch der Schweiz. Bd. I. p. 47.)

2) Milchzeitung. 1898. No. 50 u. 51.

3) In den Versuchen von Klein und Kirsten war bei Herstellung von Backsteinkäsen (Weichkäsen) die Erhitzung der Milch von keinen schädlichen Folgen begleitet. In den Versuchen dagegen, die in dem milchwirtschaftlichen Institute in Hameln unter Leitung von Prof. Dr. Vieth ausgeführt wurden, verlief die Reifung von Backsteinkäsen, die aus bis auf 100° erhitzter Milch hergestellt worden waren, ganz unnormal. (Molkerei-Zeitung. Berlin 1899. p. 298.)

	Alter der Käse zur Zeit der Untersuchung	Bakteriologischer Befund	Von 100 Teilen des gesamten Stickstoffes sind in Lösung übergegangen		Amidstickstoff in Prozenten des gesamten löslichen Stickstoffes
			Insgesamt	In Form von Eiweißzersetzungsprodukten (Amidstickstoff)	
Versuch 1 (27. Jan. 1899). Käse aus bis 90° C erwärmt. Milch ohne Bakterienzusatz	$1^3/_4$ Mon.	Steril	2,89	0,49	8,87
Versuch 2 (23. Jan. 1899).					
a) Kontrollkäse aus Milch, die 5 Minuten lang bei 85° C erwärmt worden war	2 Monate	Bact. lactis acidi	4,06	0,54	10,83
b) Käse aus der gleichen Milch, aber geimpft mit Tyrothrix tenuis-Sporen (Agarkulturen)	2 Monate	12 500 Tyr. ten. per Gramm	4,85	0,28	5,77
Versuch 3 (26. Mai 1899). Käse aus bis 90° C erwärmter Milch mit Bacillus 1 geimpft	a) Unmittelmittelbar n. d. Herstellung	Platten steril			
	b) 3 Tage	12 625 000 Bacillus 1 per Gramm			
	c) 6 „	300 000 Bac. 1 p. Gr., dazu Bact. lact. acidi			
	d) 11 „	Nur Bact. lact. acidi			
	e) 15 „	1000 Bac. 1 per Gr., dazu sehr viele Bact. lactis acidi	7,74	0,74	9,56
Versuch 4 (27. Jan. 1899).					
a) Kontrollkäse aus bis 90° C erwärmter Milch	2 Monate	Sehr viel Bacillus Schafferi	4,98	0,49	9,84
b) Käse aus der gleichen Milch, mit Bac. α u. Bac. ε geimpft (v. jedem 150 ccm Kultur)	2 „	Bacillus α und Bact. lactis acidi	12,01	3,55	29,56
Versuch 5 (6. April 1899).					
a) Käse aus bis 90° C erwärmter Milch, mit Bac. α und Bac. ε geimpft (v. jedem 150 ccm Kultur)	2 „	Sehr viel Bacillus α und wenig Bacillus ε	4,26	1,42	33,33
b) Käse aus der gleichen Milch und mit den gleichen Bacillen geimpft (von jedem 25 ccm Kultur)	2 „	Bacillus α und Bacillus ε	5,26	1,41	26,80

Enzyme löst. Um eine Vermehrung von Bacillus 1 sicher zu erwirken, wurde derselbe in geringer Menge der Milch zugesetzt. Der Käse wurde dann öfters bakteriologisch untersucht, um die Vermehrung zu konstatieren. Ein zweiter in ganz gleicher Weise hergestellter Käse wurde nach 15 Tagen chemisch untersucht. Die bakteriologische Untersuchung ergab in der That eine auffällige Vermehrung des eingeimpften Bacillus 1, bereits 12625000 per Gramm nach 3 Tagen. Von da an aber nahm ihre Zahl rasch ab, so daß nach 11 Tagen Bacillus 1 auf den Platten nicht mehr zu finden war. Ferner scheint dieser Mikroorganismus das Caseïn in Abwesenheit der natürlichen Enzyme lösen zu können, da nach 15 Tagen 7,74 Proz. des Gesamtstickstoffes in Lösung übergegangen waren. Dagegen war die Bildung von Amidstickstoff eine sehr geringe.

Interessant war auch das Resultat von Versuch 4[a], in welchem sich zufälliger Weise Bacillus Schafferi, ein Blähungserreger, im Käse (dem Kontrollkäse) entwickelte. In diesem Käse zeigten sich nämlich nur sehr geringe Reifungserscheinungen. Man erinnert sich vielleicht, daß der eine von uns das Gleiche konstatierte in Versuchen, in welchen dieser Mikroorganismus in Milch verimpft worden war. Es zeigt dieses, daß die Blähungsbakterien entgegen der Meinung von Baumann wohl keine Rolle bei der Reifung spielen.

(Schluß folgt.)

Galaktase, das der Milch eigentümliche proteolytische Ferment, seine Eigenschaften und seine Wirkung auf die Proteide der Milch.

[Beitrag von der Wisconsin Agricultural Experiment Station.]

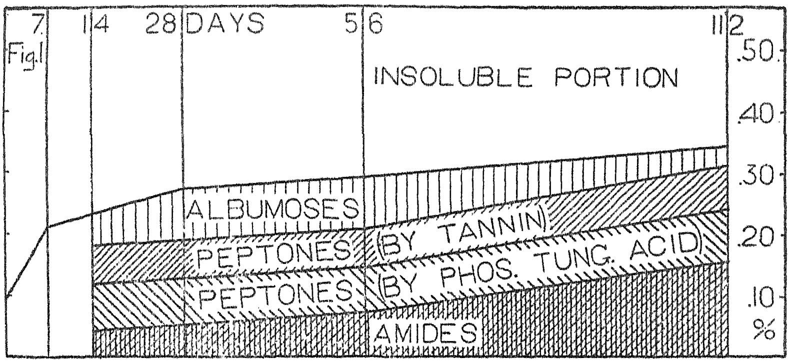
Von **S. M. Babcock** und **H. L. Russell** in Madison, Wis., U. S. A.

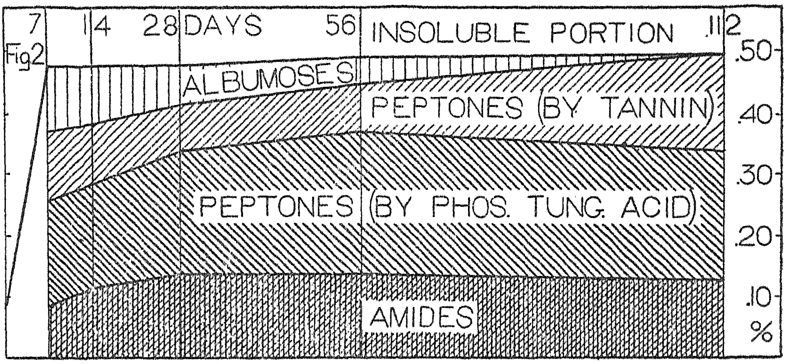
Mit 8 Figuren.

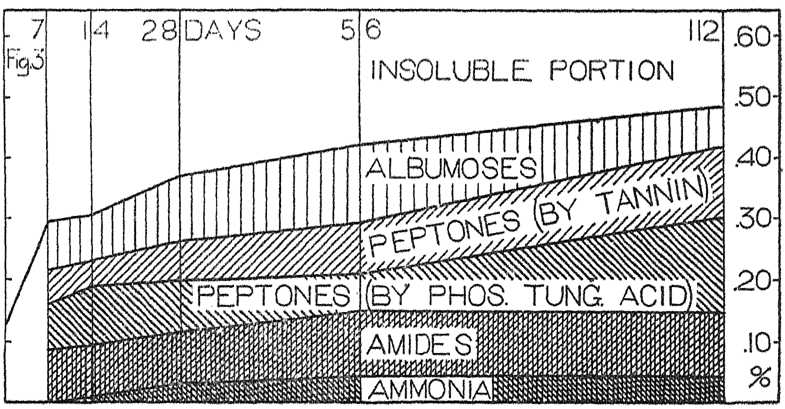
(Schluß.)

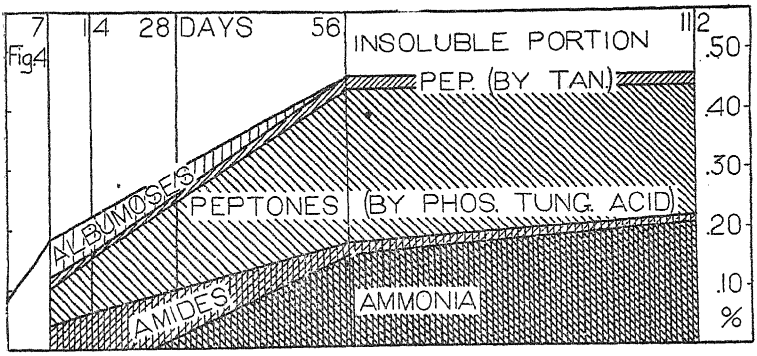
Diese schnelle Zersetzung erscheint noch auffallender, wenn man eine Vergleichung zwischen den verschiedenen Fermenten in verschiedenen Stadien der Digestion anstellt (s. Fig. 2, p. 80). Im Lichte dieser Thatsachen bestätigt das Fehlen des Ammoniaks, dieses einfachsten Zersetzungsprodukts, bei Anwendung des Trypsins sehr entschieden den Schluß, daß Galaktase nicht mit Trypsin identisch ist.

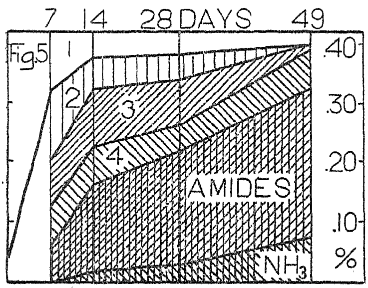
Während in Bezug auf den Betrag der gebildeten Zwischenprodukte ein bedeutender Unterschied zwischen den verschiedenen Fermenten besteht, den man für einen Beweis ihrer Verschiedenheit halten könnte, darf man doch diesem Punkte nicht zu viel Gewicht beilegen, weil diese Gruppen mehr dynamisch als statisch sind. Der Unterschied der Endprodukte hat nach unserer Meinung viel größere Beweiskraft. Später wird dieser Punkt weiter besprochen werden.

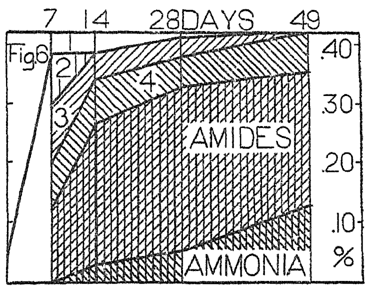

7
14
28
DAYS
56
112
Fig.1
INSOLUBLE PORTION
ALBUMOSES
PEPTONES (BY TANNIN)
PEPTONES (BY PHOS. TUNG. ACID)
AMIDES
.50
.40
.30
.20
.10
%


7
14
28
DAYS
56
112
Fig2
INSOLUBLE PORTION
ALBUMOSES
PEPTONES (BY TANNIN)
PEPTONES (BY PHOS. TUNG. ACID)
AMIDES
.50
.40
.30
.20
.10
%


7
14
28
DAYS
56
112
Fig.3
INSOLUBLE PORTION
ALBUMOSES
PEPTONES (BY TANNIN)
PEPTONES (BY PHOS. TUNG. ACID)
AMIDES
AMMONIA
.60
.50
.40
.30
.20
.10
%







Zersetzungsprodukte verschiedener Enzyme in gekochter Milch im Wärmschrank bei 37 ° C.

Fig. 1. Pankreatin }
Fig. 2. Trypsin } Enzyme von tierischem Ersprung.
Fig. 3. Galaktase }

Fig. 4. Bacillus subtilis }
Fig. 5. Bacillus 299 (Milch-divergierende Species) } Enzyme, von Bakterien herrührend.
Fig. 6. Bacillus 88 („ „ „) }

Fortschreitendes Verhältnis der Zersetzung.

In allen Fällen schreiten die Veränderungen der Zersetzung im Anfang schneller vorwärts als in den späteren Stadien der Reihen und folgen so dem allgemeinen Gesetze der enzymischen Wirkung. Der ursprünglich in der Milch vorhandene lösliche Stickstoff (initial soluble nitrogen unserer Nomenklatur) betrug gewöhnlich ungefähr 0,08—0,10 Proz. Alle die verschiedenen Proteïdklassen, von der Albumose bis zum Ammoniak, sind in diesem Betrag enthalten, aber da dieser so klein ist, sind quantitative Bestimmungen nicht gleichförmig gemacht worden.

Während der ersten analytischen Periode (7 Tage) wurden 30 bis 85 Proz. des sämtlichen Stickstoffs digeriert. In den meisten Fällen

nahm das Verhältnis der Digestion nach den ersten beiden Wochen ab. Dieses fortschreitende Verhältnis der Zersetzung sowohl als auch die verschiedenen Beträge der gebildeten einzelnen Proteïde ersieht man aus der folgenden Tabelle und graphisch in Fig. 1—6.

Tabelle IX. Verteilung des Stickstoffs in verschiedenen Perioden der Digestion.

Name des Ferments oder Organismus	Sämtlicher Stickstoff in der Milch	Initialer löslicher Stickstoff	Sämtlicher löslicher Stickstoff	Klassen der Proteïdkörper					
				Caseïn	Albumosen	Peptone (durch Tannin)	Peptone (durch Phosphorwolframsäure)	Amidoprodukte	Ammoniak
Pankreatin:									
0 Tage	0,54	0,08							
7 „			0,20	0,34	—	—	—	—	—
14 „			0,22	0,32	0,03	0,06	0,07	0,04	—
28 „			0,26	0,28	—	—	—	—	—
56 „			0,28	0,26	0,08	0,06	0,07	0,07	—
112 „			0,33	0,21	0,03	0,07	0,08	0,15	—
Trypsin (I):									
0 Tage	0,545	0,09							
7 „			0,42	0,12	0,14	0,04	0,12	0,12	0
14 „			0,44	0,10	0,09	0,05	0,16	0,14	0
28 „			0,47	0,07	0,09	0,08	0,13	0,17	0
56 „			0,47	0,07	0,04	0,07	0,18	0,18	0
112 „			0,48	0,06	0	0,15	0,15	0,18	0
Trypsin (II):									
0 Tage	0,545	0,088							
7 „			0,45	0,095	0,103	—	—	0,088	0
14 „			0,458	0,087	0,085	0,094	0,164	0,115	0
28 „			0,454	0,091	0,06	0,067	0,195	0,132	0
56 „			0,474	0,071	0,044	0,074	0,221	0,135	0
112 „			0,471	0,074	0	0,146	0,20	0,125	0
Galaktase:									
0 Tage	0,61	0,12							
7 „			0,28	0,33	—	—	0,07	0,08	0
14 „			0,29	0,32	0,07	0,04	0,09	0,08	0,01
28 „			0,35	0,26	0,10	0,06	0,08	0,08	0,03
56 „			0,40	0,21	0,12	0,08	0,06	0,10	0,04
112 „			0,46	0,15	0,06	0,11	0,15	0,10	0,04
B. subtilis (I):									
0 Tage	0,545	0,088							
7 „			0,18	0,36	0,06	0,02	0,06	0,04	tr.
14 „			0,22	0,32	0,06	0,01	0,09	0,06	tr.
28 „			—	—	—	—	—	—	—
56 „			0,44	0,10	0	0,02	0,25	0,02	0,15
112 „			0,44	0,10	0	0,02	0,21	0,01	0,20
B. subtilis (II):									
0 Tage	0,545	0,088							
7 „			0,173	0,372	0,039	—	—	0,034	tr.
14 „			0,214	0,331	0,029	0,029	0,081	0,075	tr.
28 „			0,262	0,283	0,007	0,02	0,12	0,071	0,04
56 „			0,443	0,102	0	0,03	0,248	0,002	0,16
112 „			0,420	0,125	0	0,05	0,154	0	0,21

Name des Ferments oder Organismus	Sämtlicher Stickstoff in der Milch	Initialer löslicher Stickstoff	Sämtlicher löslicher Stickstoff	Klassen der Proteïdkörper					
				Casein	Albumosen	Peptone (durch Tannin)	Peptone (durch Phosphorwolframsäure)	Amidoprodukte	Ammoniak
B. 299									
0 Tage	0,40	0,038							
7 „			0,306	0,094	0,114	0,075	0,058	0,06	tr.
14 „			0,361	0,039	0,051	0,095	0,055	0,14	0,02
28 „			0,368	0,032	0,040	0,068	0,041	0,185	0,03
56 „			0,375	0,025	0	0,009	0,057	0,240	0,07
112 „			0,38	0,03	0	0	0,03	0,23	0,11
B. 83									
0 Tage	0,40	0,038							
7 „			0,365	0,035	0,077	0,092	0,073	0,123	tr.
14 „			0,366	0,034	0,003	0,042	0,067	0,226	0,03
28 „			0,391	0,009	0	0,027	0,046	0,274	0,05
56 „			0,402	0	0	0	0,058	0,216	0,13
112 „			0,402	0	0	0	0,032	0,231	0,15

Da das Verhältnis der Digestion durch Faktoren (Menge des zugesetzten Ferments u. s. w.) beeinflußt wird, deren genaue Kontrolle unmöglich ist, so wäre es unvorsichtig, entschiedene Folgerungen über die Wichtigkeit der verschiedenen Gruppen von Proteïden zu ziehen, die von diesen Fermenten gebildet werden. Im allgemeinen kann man aber sagen, daß die mehr komplizierten Stickstoffkörper in den früheren Stadien der Digestionsperiode in verhältnismäßig größerer Menge vorkommen, während die Gruppen der tieferen Zersetzung (Ammoniak und Amide) bei der Verlängerung der Digestionsperiode zuzunehmen fortfahren. Dies wird durch eine graphische Darstellung (Fig. 1—6) noch deutlicher gemacht, welche fortschreitende Zunahme in den niederen Gruppen zeigt im Gegensatz zu der etwas unregelmäßigen Abnahme im Betrag der höheren Klassen der Proteïde. Man könnte aber durch eine graphische Darstellung, welche eine fortschreitende Aenderung während einer gegebenen Zeitperiode zeigt, zu Irrtum verleitet werden, denn diese kann wegen der Wirkung eines anderen, schneller oder langsamer wirkenden Ferments variieren infolge der Menge des vorhandenen Enzyms oder der Begünstigung der Wirkung durch äußere Umstände.

Die vorstehende graphische Darstellung zeigt die Verteilung dieser Proteïdkörper in verschiedenen Stadien der Digestionsperiode, aber um eine genaue Vergleichung zu erlauben, ist diese Angabe in Fig. 7 und 8 wieder zusammengestellt auf der Basis der durch die verschiedenen Fermente gebildeten Proteïd-Gruppen. In dieser Reihe wird diese Beziehung deutlicher.

Differenzierung der Fermente durch die gebildeten Zersetzungsprodukte.

Obgleich die die Verteilung der Albumosen zeigende Fig. 7 einen bedeutenden Unterschied zwischen den verschiedenen Fermenten zeigt, so ist es doch unsicher, positive Schlüsse aus der Verteilung des

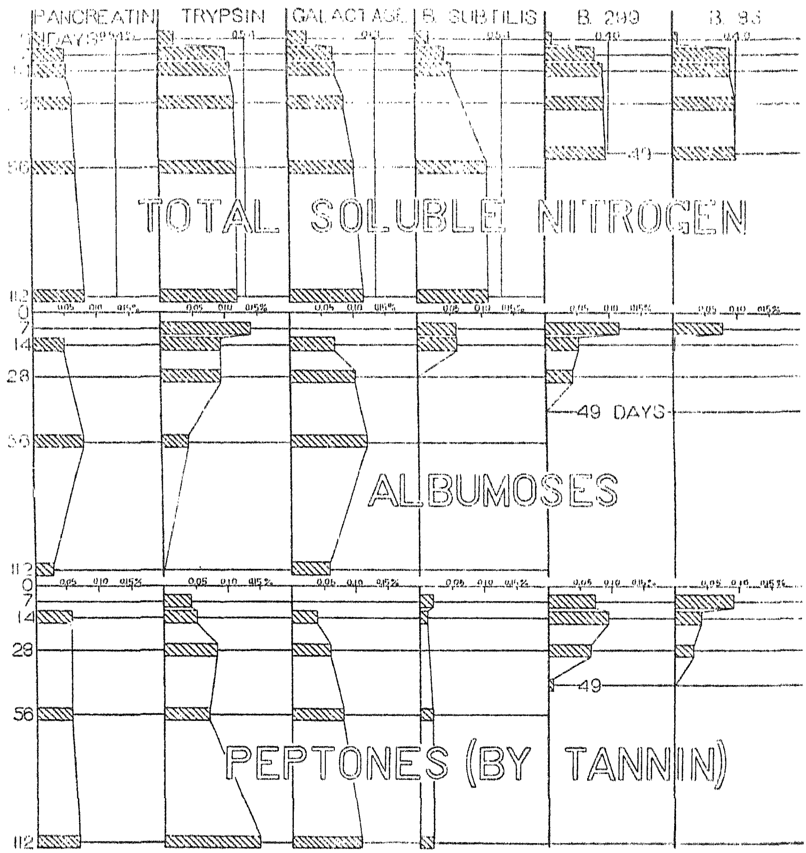


Fig. 7. Verteilung des Stickstoffs auf verschiedene Perioden der Digestion.

Stickstoffs in diesen mehr komplizierten Körpern zu ziehen, weil sie so unbeständig sind. In der Peptongruppe ist eine teilweise Differenzierung möglich durch Tannin und Phosphorwolframsäure, indem der größere Teil des Peptons in der niederen Gruppe gefunden wird, d. h. der durch letzteres Reagens niedergeschlagenen.

In denjenigen Gruppen, welche die Endprodukte der Digestion enthalten, wird die Differenzierung zwischen den verschiedenen Fermenten deutlicher. In der Amidgruppe wirkt Galaktase auf ähnliche Weise wie Trypsin, indem ein bedeutender Betrag von Stickstoff am Ende der Reihe in dieser Form erscheint.

Dieses Verhalten unterscheidet sich scharf von dem des B. subtilis, bei welchem die Amide sehr bald verschwinden, was für sich einen Unterschied von dem Verhalten anderer digestiver Bakterienarten darstellt, bei denen sich mehr als die Hälfte des sämtlichen Stickstoffs am Ende von 56 Tagen in Amidform findet.

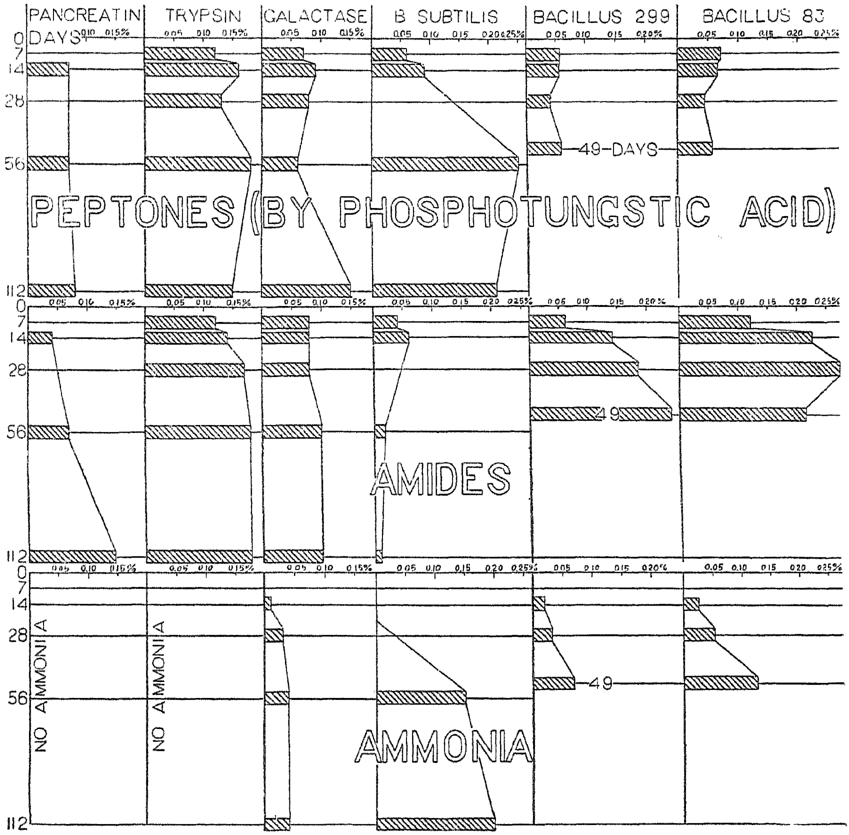


Fig. 8. Verteilung des Stickstoffs auf verschiedene Perioden der Digestion.

Die spezifische Natur der Galaktase, insofern sie einerseits den von verflüssigenden Bakterien erzeugten digestiven Enzymen nahesteht und andererseits dem Trypsintypus der Fermente, zeigt sich besonders gut in Fig. 8, die den Stickstoff in der Form von Ammoniak angiebt. Die Unfähigkeit des Trypsins und Pankreatins, in der Milch Ammoniak zu bilden, unterscheidet diese Fermente scharf von Galaktase, bei der Ammoniak unfehlbar auftritt, selbst in den früheren Stadien der Digestion. Soweit die Erzeugung von Ammoniak im Spiele ist, zeigt die Galaktase, ein Enzym von tierischem Ursprung, nähere Verwandtschaft zu den digestiven Bakterienenzymen, als zu irgend einem anderen der hier studierten tierischen Fermente. Unter den Bakterienenzymen sind 2 Typen zu bemerken, der eine dargestellt durch B. subtilis, bei welchem mit dem Fortschritt der digestiven Periode die Menge der Amide abnimmt, der andere durch die beiden hier studierten Organismen (B. 299 und B. 83) bei denen der meiste Stickstoff in Amidform auftritt. Bei B. 299 sind die

Amidsäure, Leucin und Tyrosin so reichlich, daß bedeutende Mengen in krystallinischer Form abgeschieden werden.

Während also, kurz gefaßt, die Galaktase zu dem Trypsintypus der löslichen Fermente zu gehören scheint, wenn man sie auf der Basis der Wirkung der Faktoren der Umgebung klassifiziert, unterscheidet sie sich doch scharf von dieser Gruppe, wenn man sie aus dem Gesichtspunkte ihrer Zersetzungsprodukte betrachtet. Dies zeigt an, daß die Galaktase, obgleich sie von animalischem Ursprunge ist, sich doch spezifisch von anderen animalischen Fermenten unterscheidet. In der That, wenn man den Typus der Zersetzungsprodukte betrachtet, zeigt die Galaktase eine viel nähere Verwandtschaft zu den Bakterienenzymen, die durch digestive oder verflüssigende Organismen hervorgebracht werden, als zu irgend einer anderen Gruppe.

Da derselbe Typus von Produkten bei dem Reifen des Cheddarkäses gefunden wird, der sowohl durch Galaktase als durch die digestiven Bakterienfermente in der Milch gebildet wird, könnte man schließen, daß eines von diesen bei dem Reifungsprozesse thätig sei. Diese Thatsache stützt Duclaux's Hypothese, daß das Reifen des Käses von der Wirkung digestiver Bakterienfermente abhänge, und wären diese Organismen bei unseren Experimenten durch die Zugabe verschiedener Anästhetika zu Milch und Käse nicht vollkommen ausgeschlossen gewesen, könnten unsere Resultate als Bestätigung seiner Ansicht betrachtet werden. Aber da die Milch natürlicherweise durch die Galaktase digeriert wird, während die metabolische Thätigkeit jeder Art von Bakterien ausgeschlossen ist, und da die Veränderung in Käse auftritt, der unter dem Einflusse der Anästhetika reift, so muß man durchaus die Wirkung eines Agens annehmen, das nicht belebt ist und in der Milch von Anfang an existiert; denn es kommt nicht darauf an, wie bald die Milch unter den Einfluß der Anästhetika kommt, das Resultat ist immer dasselbe. Duclaux nimmt bei seiner Hypothese an, die unmittelbare Ursache des Reifens des Käses hänge von Enzymen ab, das wirksame Agens sei das Enzym „Casease", aber er irrt, indem er diesem Ferment eine falsche Quelle zuschreibt. Nicht von digestiven Bakterien, wie er behauptet, ist das Ferment; die Ursache des Reifens ist tierischen Ursprungs, es ist die Galaktase, das inhärierende, proteolytische Milchferment, und nicht die Casease, das bakterielle, proteolytische Ferment. Hätte er seine Experimente mit Käse fortgesetzt, statt seine Aufmerksamkeit ausschließlich auf die Wirkung digerierender Bakterien in der Milch zu beschränken, so würde er wahrscheinlich gefunden haben, daß die Bedingungen der Entwickelung dieses Typus von Bakterien in einem Medium ganz verschieden sind von denen in einem anderen. In dem harten Typus des Labkäses, wenn er normal zubereitet wird, herrscht diese Klasse von Bakterien nicht vor, wie Freudenreich und Andere gezeigt haben. Obgleich normalerweise in der Milch in gewissem Maße vorhanden, werden sie durch das üppige Wachstum der Milchsäureklasse im Käse niedergehalten und bilden daher unter normalen Umständen keinen wichtigen Faktor.

Folgerungen.

Die Gegenwart der Milch inhärierender, nicht organisierter, proteolytischer Enzyme wurde in diesem Centralblatt. 2. Abt. Bd. III. p. 615 beschrieben und durch die obigen Untersuchungen weiter aufgeklärt.

Dieses Ferment ist zwar mit anderen proteolytischen Enzymen von tierischem und pflanzlichem Ursprung verwandt, aber von den bisher beschriebenen verschieden und ist von uns Italics benannt worden wegen seiner inhärierenden Beziehung zur Milch.

Die Untersuchung der Milchsekretion verschiedener Arten von Säugetieren, wie Kuh, Schaf, Ziege, Schwein, Pferd, Esel, Büffel und Mensch zeigen, daß dieses Ferment in allen Fällen vorhanden ist.

Die Wirkung des Ferments in Bezug auf den Einfluß der Faktoren der Umgebung beweist, daß dieses Enzym zu derjenigen Klasse gehört, deren am besten bekannter Repräsentant das Trypsin ist. Dieses Ferment wirkt kräftiger in neutralen oder schwach alkalischen Lösungen, obgleich es gegen saure Reaktion weniger empfindlich ist als Trypsin.

Die Temperatur, bei der die stärkste Wirkung eintritt, liegt bei 37—42° C. Die Wärmegrenze der Thätigkeit wird durch die chemische Reaktion der Flüssigkeit beeinflußt, sie ist niedriger in sauren als neutralen oder alkalischen Lösungen. Wenn erwärmte Lösungen von Galaktase zu normaler Milch hinzugefügt werden, wird die Digestion durch 10 Minuten lange Erhitzung auf 70° C verzögert und ganz verhindert, wenn die Erwärmung während derselben Zeit 76° betragen hat. Bei der Probe mit Gelatine (Fermi's Probe) trat selbst bei 65° C keine Digestion ein, obgleich nicht erwärmte Proben die Gelatine verflüssigten.

Das Ferment zersetzt H_2O_2 schnell. In der Milch kann es durch den Charakter seiner Zersetzungsprodukte leicht von allen anderen tierischen oder bakteriellen proteolytischen Fermenten unterschieden werden, wie Trypsin, Pepsin und Enzyme von verflüssigenden Bakterien. Von dem Pankreasfermente Trypsin unterscheidet sich Galaktase dadurch, daß es unfehlbar, selbst in den früheren Digestionsstadien, Ammoniak bildet, während Trypsin in der Milch in keinem Stadium eine wahrnehmbare Menge dieser Substanz hervorbringt. Galaktase ähnelt in dieser Beziehung mehr den von verschiedenen peptonisierenden Bakterien stammenden Enzymen. Bei unseren Studien haben wir sie mit B. subtilis und 2 Species von den digerierenden Bakterien verglichen, die sich in unvollkommen sterilisierter Milch finden. Von diesen ist es leicht zu unterscheiden durch die gleichförmige Verteilung des Stickstoffs in den verschiedenen Klassen von Digestionsprodukten, wie Albumosen, Peptone, Amide und Ammoniak. Den Unterschied zwischen Galaktase und anderen proteolytischen Fermenten, nicht allein wegen ihres Charakters und des Betrags der hervorgebrachten Zersetzungsprodukte, sondern auch, insofern er durch den Einfluß äußerer Faktoren bestimmt wird, beweist die spezifische Natur dieses inhärierenden Milchferments.

Die enge Verbindung, die man zwischen der Wirkung der Galaktase in der Milch und dem normalen Reifen des Cheddarkäses in Bezug auf die Art der gebildeten Zersetzungsprodukte bemerkt und ihr Verhältnis zu einander ist ein starker, von der Analogie entnommener Beweis, daß diese beiden Vorgänge durch dasselbe Agens hervorgebracht werden.

Die Hypothese, daß dieses Enzym bei dem Reifen des Cheddarkäses eine wichtige Rolle spielt, haben wir schon in anderer Verbindung bewiesen[1]), indem wir alle lebenden Fermente und die von diesen abgeleiteten Enzyme ausschlossen und zeigten, daß die Veränderungen beim Reifen sowohl in der Milch als im Käse mit diesem Ferment in ursächlicher Verbindung stehen.

Zur Frage nach der Existenz pflanzenpathogener Bakterien.

Von Prof. Dr. **C. Wehmer** in Hannover.

Die augenblicklich wenig erfreuliche Sachlage läßt eine baldige Klärung sehr erwünscht erscheinen. Das wird natürlich am leichtesten erreicht, wenn solche Bakterienspecies, denen Pathogenität für diese oder jene Pflanzenart zugeschrieben wird, in Reinkultur aufbewahrt und Interessenten zugänglich gemacht werden. Dadurch ist jeder Forscher in den Stand gesetzt, die Versuche Anderer mit eben derselben Form nachzumachen, sich also eventuell auch von der Richtigkeit der Angaben selbst zu überzeugen. Das kann nur im eigenen Interesse des Autors liegen, überhebt ihn also auch der Notwendigkeit weiterer, oft wenig Neues bringender Diskussionen. Uebrigens gilt das auch für andere Pilzarten.

Sehr erwünscht wäre natürlich das allseitige Eingehen einer Verpflichtung zur Einlieferung pflanzenpathogener Species — oder solcher, die es sein sollen — an eine Sammelstelle, was aber wohl nicht leicht zu erreichen ist; man könnte aber durch stillschweigendes Uebereinkommen die Anerkennung einer pathogenen Art von ihrer Einlieferung an die Sammelstelle (in lebender Reinkultur) abhängig machen. Das würde schon der bisweilen wenig kritischen und willkürlichen Aufstellung bakterieller Pflanzenkrankheiten merklich Einhalt thun; übrigens sollte man in wissenschaftlichen Werken jene Anerkennung auch solchen angeblichen Krankheiten streng versagen, bei denen die Autoren sich nicht einmal die Mühe von Infektionsversuchen gemacht haben; der Sache selbst würde damit nur genützt.

Von der in Anregung gebrachten Sammelstelle, welche zur fortlaufenden Weiterzüchtung der Mikroorganismen verpflichtet wäre, würde Interessenten jederzeit Material zu Studien- bezw. Ver-

1) 14., 15. and 16. Reports Wis. agric. exp. station. 1897—1899.

gleichszwecken zugänglich sein; am besten eignete sich dazu wohl das auf diesem Gebiete hinlänglich bewährte fachmännisch geleitete Král'sche bakteriologische Laboratorium zu Prag, das ich also direkt in Vorschlag bringe. Nebenbei würde ich auch selbst jene Verpflichtung für etwaige mir überlassene Kulturen übernehmen.

Nur so wird, wie ich meine, das Kapitel über pflanzliche Bakterien- und Pilzkrankheiten mit der Zeit endlich wirksam geklärt und auf eine gesunde Grundlage gestellt.

Referate.

Berthelot, Remarques sur la formation de l'alcool et de l'acide carbonique et sur l'absorption de l'oxygène par les tissus des plantes. (Comptes rendus des séances de l'Académie des sciences de Paris. T. CXXVIII. 1899. No. 23. p. 1366—1370.)

Unter Beobachtung der größten Vorsichtsmaßregeln wurde nachgewiesen, daß in jungen Blättern von Secale und Corylus avellana normalerweise geringe Mengen von Alkohol vorkommen.

B. macht bei dieser Gelegenheit darauf aufmerksam, daß die Atmung nicht die einzige Ursache für Abscheidung von CO_2 sei.

Kolkwitz (Berlin).

Albert, R., Ueber künstliche Anreicherung der Hefe an Zymase. (Ber. d. deutsch. chem. Ges. Bd. XXXII. 1899. p. 2372—2374.)

Hefepreßsaft von beträchtlicher Gärkraft gewann Verf. durch Verarbeitung der (nach Hayduck's Methode) „regenerierten" Hefe, Herabsetzung der Temperatur und ein längeres Stehenlassen in der Zuckerlösung war für das Resultat ohne Belang. Unterbricht man dagegen den Prozeß, bevor die Gärung beendet ist, so ist die Gärkraft des aus der so behandelten Hefe gewonnenen Preßsaftes nur gering. Während der lebhaftesten Gärthätigkeit müssen demnach die Hefezellen einen geringeren Zymasevorrat besitzen als nach Ueberschreitung dieses Höhepunktes.

Der Glykogengehalt der Hefezellen ist während des Regenerationsverfahrens ein sehr verschiedener. 4 Stunden nach Beginn des Verfahrens ist Glykogen kaum nachweisbar, nach abermals 4 Stunden ist ein Drittel aller Hefezellen stark glykogenhaltig. Nach 24-stündiger Behandlung ist das Glykogen wieder verschwunden. Unterläßt man die Luftdurchleitung während des Regenerationsverfahrens, so steigt der Glykogengehalt noch höher. — Die künstliche Anreicherung der Hefe an gärwirksamen Substanzen spricht eher für die Enzym- als für die Plasmatheorie.

Küster (München).

Cremer, M., Ueber Glykogenbildung im Hefepreßsaft. (Ber. d. deutsch. chem. Ges. Bd. XXXII. 1899. p. 2062—2064.)

Frischer Hefepreßsaft giebt mit Jodjodkalium die bekannte Glykogenreaktion, die allmählich schwindet, wenn man den Preßsaft 6—12 Stunden sich selbst überläßt. Bringt man zu glykogenfreiem (oder glykogenarmen) Preßsaft gegen 10 Proz. eines gärungsfähigen Zuckers, so kehrt die Glykogenreaktion wieder. Ueber die Gründe, welche bei einigen Versuchen ihr Ausbleiben erklären könnten, vermag Verf. nichts auszusagen. — Könnte man dem Hefepreßsafte irgendwelches „Leben" zuschreiben, so könnte man durch dieses das Wiederauftreten der Glykogenreaktion erklären. „Enthält er aber nur gelöste Substanzen, so zwingen dieselben zur Annahme synthetisierender Enzyme. Auf alle Fälle kann im Preßsaft über die Glykogenstufe eine Umwandlung von Lävulose in Dextrose stattfinden, und das halte ich nicht für unwichtig mit Rücksicht auf die früher von mir geäußerte Meinung, daß möglicherweise die Dextrose (resp. Derivate derselben) allein zu gären vermögen."

Küster (München).

Behrens, J., Die Braunfleckigkeit der Rebenblätter und die Plasmodiophora Vitis. (Weinbau u. Weinhandel. 1899. No. 33.)

Die „Braunfleckigkeit" (brunissure) der Rebenblätter wurde von Viala und Sauvageau auf einen den Schleimpilzen nahestehenden Organismus zurückgeführt, den die beiden Autoren als Plasmodiophora Vitis bezeichneten. Moritz und Busse bestätigten später die Angaben der französischen Autoren durch Untersuchungen an deutschem Material.

Die Untersuchungen des Verf. ergeben mit großer Deutlichkeit, daß der zuerst von Viala und Sauvageau als Parasit gedeutete Plasmaklumpen in den Zellen der erkrankten Blätter, der übrigens nur nach Behandlung mit Eau de Javelle sichtbar wurde, ein Kunstprodukt sein muß. Durch gleiche Behandlung erhält man gleiche Plasmahäufchen auch in den Zellen der durch Peronospora oder Sonnenbrand erkrankten Rebenblätter, vertrocknete Rosenblätter liefern dieselben Produkte.

Der „Krankheitserreger", der nach späteren Untersuchungen von Debray (vergl. dieses Centralbl. II. Abt. Bd. V. p. 462), Brizi und Roze erstaunlich vielseitig zu sein schien, die verschiedensten Pflanzengruppen, ja sogar Meeresalgen heimzusuchen vermochte, ist somit als selbständiger Organismus nicht vorhanden.

Küster (München).

Svendsen, Carl Joh., Ueber ein auf Flechten schmarotzendes Sclerotium. (Bot. Notiser. 1899. Heft 5. Mit 1 Taf. 10 p.)

Bei Stockholm, Örebro und Upsala kommt nicht selten ein Lichenenparasit vor, der, ähnlich wie das von W. Rothert untersuchte Sclerotium hydrophilum Sacc., sich sowohl in der Natur als in Kulturen ausschließlich durch Sclerotien fortpflanzt. Die Dia-

gnose des vom Verf., mit Unterstützung von Prof. G. Lagerheim, näher untersuchten Pilzes lautet:

Sclerotium lichenicola Svends. n. sp. Sclerotiis minimis, diam. 0,5—1 mm, lenticularibus vel globosis, primo luteolis, demum fuscis, matrice laxe adhaerentibus, mycelio griseo-albo tenui primum circumdatis. Hyphis aëreis fibulis instructis, hyphis intramatricalibus fibulis et haustoriis destitutis. Cellulis sclerotii maturi membrana valde incrassata, contentu oleoso. Fructificatione ut videtur nulla.

Habitat in Suecia ad Upsaliam, Holmiam, Dalarö et Örebro in thallo Anaptychiae ciliaris (L.), Callopismatis vitellini (Ehrh.), Lecanorae subfuscae (L.), Parmeliae olivaceae (L.), P. saxatilis (L.), Physciae caesiae (Hoffm.), Xanthoriae parietinae (L.), Trentepohliae umbrinae (Kütz.) Born. parasiticum.

Der die jungen Sclerotien umgebende grauweiße Schimmel besteht aus radiär ausstrahlenden, geradelaufenden, stark verzweigten, beinahe immer mit Schnallenfusionen versehenen, häufig anastomosierenden Hyphen, deren Zellen große Vakuolen und Glykogentropfen enthalten. Die im Innern der Wirtspflanze wachsenden Hyphen haben ein anderes Aussehen: Sie sind dünner als die in der Luft auftretenden, gebuchtet und haben keine Schnallenfusionen. Diese Hyphen umspinnen und zerstören die Gonidien; sie dringen auch in die Apothecien, namentlich in deren Subhymenialschicht hinein. Zuletzt wird die Flechte vom Parasiten gänzlich überwuchert und ausgezehrt.

Wurden an flüssigen Substraten (z. B. Zwetschendekokt) gekeimte Sclerotien unter der Flüssigkeitsoberfläche fixiert, so wuchs ein dichter, aus parallel laufenden Zellfäden bestehender Hyphenbüschel nach der Oberfläche empor, wo eine Decke stark anastomosierender Hyphen gebildet wurde. Die Mycelfäden, die sich in der Nährflüssigkeit bildeten, hatten ein anderes Aussehen als die in der Luft gewachsenen, indem sie gebuchtet waren, keine Schnallenfusionen hatten und aus kürzeren Zellen bestanden. Es geht hieraus hervor, daß das Auftreten von Schnallenfusionen bei diesem Pilze von äußeren Faktoren bedingt ist.

Ein der Flechte entnommenes Sclerotium keimt auf einem festen Nährboden durch Aussenden von Hyphen sowohl in und auf dem Substrate als auch in die Luft empor. Das Wachstum des Luftmycels hört bald auf, während das Mycel in und auf dem Nährboden sehr lebhaft in centrifugaler Richtung wächst; nach einigen Tagen werden neue Sclerotien gebildet. Ein dem Substrate anliegender Mycelast sendet einen kleinen Zweig in die Luft empor, wo er sich, zum Teil unter spiraliger Drehung, sehr stark und unregelmäßig verzweigt; nach 4—7 Tagen liegt ein neues Sclerotium dem Substrate an.

Während sowohl die auf den Flechten vorkommenden als die in der Kultur erhaltenen Sclerotien, solange sie noch jung sind, sehr reich an Glykogen sind, enthalten die reifen Sclerotien ausschließlich ein fettes Oel. Wahrscheinlich ist es aus dem Glykogen entstanden, und die Umwandlung geschieht, während sich die Rinde ausdifferen-

ziert, und dürfte mit der Ausscheidung von Tropfen einer gelblichen wässerigen Flüssigkeit zusammenhängen.

Die chemische Struktur der Membranen des Pilzes hat Verf. eingehend studiert; es zeigte sich, daß dieselben nur aus einem Pektinstoffe und Cellulose, vielleicht mit einem stickstoffhaltigen Stoffe gemischt, bestehen.

Bei + 32° C auf Malzextrakt-Agar-Agar kultiviert, zeigten die jungen Sclerotien keine Keimungserscheinungen; sobald sie in Zimmertemperatur kamen, entwickelten sie sich wie sonst. Die untere Temperaturgrenze, bei der das Protoplasma der jungen Sclerotien und Hyphen stirbt, ist wahrscheinlich eine ziemlich niedrige; Flechten und Sclerotien wurden Mitte Januar in ziemlich großer Kälte eingesammelt, aber sofort wie sie in Zimmertemperatur kamen, keimten sie. Der Pilz kann sich also wahrscheinlich durch die Sclerotien von Jahr zu Jahr erhalten; diese haben zu ihrer Weiterentwickelung keine Ruheperiode notwendig. Die Verbreitung geht wahrscheinlich durch Insekten, Schnecken und den Wind vor sich. Um eine Infektion hervorzurufen, genügen kleine losgerissene Mycelfäden.

Die Schnallenfusionen deuten darauf, daß man es mit einem höheren Basidiomyceten zu thun hat, wahrscheinlich mit einem Hymenomyceten, der die Fähigkeit, Sporen zu bilden, verloren hat.

Grevillius (Kempen a. Rh.).

Nestler, A., Ueber das Vorkommen von Pilzen in Wachholderbeeren. (Berichte der deutsch. botan. Ges. Bd. XVII. Heft 8. p. 320—325. Mit Tafel XXV.)

Gelegentlich einer anatomischen Untersuchung von Wachholderbeeren fand Nestler in den meisten der von ihm untersuchten Objekte Pilzhyphen. Er wurde dadurch auf den Gedanken gebracht, daß diese Pilzwucherungen mitbeteiligt sein könnten an der Erzeugung der schwarzen Farbe der reifen Beeren. Einige zu diesem Zwecke angestellte Experimente zeigten, daß in der That auch unreife, grüne Beerenzapfen in 1—2 Tagen mehr oder weniger ganz schwarz werden können, wenn sie mit pilzhaltigem Fruchtfleische geimpft werden.

Auffallend ist freilich, daß das bei den einzelnen Beeren gefundene Hyphengewebe verschiedenster Zugehörigkeit ist, so daß eine einheitliche Beeinflussung der Beeren gar nicht vorliegt. Da auch über die Natur der Pilze gar nichts Näheres gesagt ist und auch die Abbildungen eine Erläuterung nicht geben, so dürfte sich eine ausführlichere Bearbeitung der Frage lohnen.

Appel (Charlottenburg).

Cunningham, Clara, A bacterial disease of the sugar beet. (Botanical Gazette. Vol. XXVIII. 1899. p. 177—192.)

Die von Kramer in Rußland, von Sorauer in Deutschland beobachtete Krankheit der Zuckerrübe scheint dieselbe zu sein, welche von der Verf. an amerikanischem Material näher untersucht worden ist. Es handelt sich bei letzterem um eine Krankheit, die sich an den Blättern der befallenen Pflanzen durch krause Deformationen

auffällig macht. Die Rüben selbst sind äußerlich unverändert, ihre Gefäßbündel nehmen dagegen einen dunklen Ton an und werden fast schwarz, wenn sie mit der atmosphärischen Luft in Berührung kommen.

Nach Ansicht der Verf. handelt es sich um eine Bakterienkrankheit. Der pathogene Organismus ließ sich isolieren, züchten und überimpfen: die infizierten Rüben erkrankten unter typischen Symptomen. Beachtenswert ist, daß sich die Bakterien auch auf schwach saurem Substrat (Apfelsäure) kultivieren lassen.

Wie die Krankheitserreger in die Rüben gelangen, ließ sich nicht ermitteln. Trockenheit mit nachfolgend kalter Witterung befördern anscheinend die Infektion. — Der Zucker der Rüben wird von den Bakterien vergoren.

Außer den in Rede stehenden Organismen fand Verf. noch einen Leuconostoc in den erkrankten Wurzeln.

Küster (München).

Massalongo, C., Di un probabile nuovo tipo di galle. (Bullettino della Società Botanica Italiana. 1899. p. 161—162.)

Als „vermutlich neuer Gallentypus" bezeichnet Verf. die von verschiedenen Flechten her bekannten „Cephalodien", die aus der Symbiose des flechtenbildenden Pilzes mit einer der Flechte ursprünglich fremden Alge hervorgehen. — Nähere Erörterungen dieser Frage stellt Verf. für eine spätere Abhandlung in Aussicht.

Küster (München).

Cavara, F., Di due microrganismi utili per l'agricoltura. (Bullettino della Società Botanica Italiana. 1899. p. 241—243.)

Als neu wird eine auf den Larven von Agrotis aquilina parasitisch lebende Oospora (O. Guerciana) beschrieben. Der Pilz, der bisher nur aus Ligurien bekannt ist, läßt sich auf den üblichen Nährböden bequem kultivieren. Vielleicht könnte durch künstliche Vermehrung und Aussaat des Pilzes dem Ueberhandnehmen der Agrotis entgegengearbeitet werden.

Der zweite Parasit, den Verf. ebenfalls in den Larven der Agrotis fand, ist ein Bakterium, das die infizierten Tiere bis zur Mumifikation durchwuchert und deformiert. Die getöteten Larven werden braun und brüchig. Auf Gelatine gedeihen die pathogenen Bakterien vortrefflich, der Nährboden wird von ihnen verflüssigt. — Verf. erwähnt seine Infektionsversuche an Larven von Hylotoma pagana. Die Bakterien führten sehr bald den Tod der Insekten herbei, wenn es sich um Injektionen handelt; wenn dagegen die Insekten zum Verzehren der Bakterien genötigt wurden, blieben sie am Leben.

Küster (München).

Neue Litteratur,

zusammengestellt von
San.-Rat Dr. Arthur Würzburg,
Bibliothekar im Kaiserl. Gesundheitsamte in Berlin.

Untersuchungsmethoden, Instrumente etc.

Friedenthal, H., Ueber eine neue Methode zur Bestimmung der Wirksamkeit von Fermentlösungen. (Centralbl. f. Physiol. 1899. No. 19. p. 481—485.)

Tarchetti, C., Ueber Fadenbildung. (Wien. klin. Rundschau. 1899. No. 50. p. 1261—1263.) Bemerk. dazu von **M. Pfaundler**. (Ibid. p. 1263—1264.)

Systematik, Morphologie und Biologie.

Benoist, R., Note sur un Psathyrella (P. circellatipes) paraissant constituer une espèce nouvelle. (Bullet. de la soc. mycol. de France. 1899. p. 163.)

Braun, M., Ueber Clinostomum Leidy. (Zoolog. Anzeiger. 1899. No. 602, 603. p. 484—488, 489—493.)

Brucker, Sur Pediculoides ventricosus Newport. (Compt. rend. de la soc. de biol. 1899. No. 37. p. 953—955.)

Caullery, M. et Mesnil, F., Sur le genre Aplosporidium (nov.) et l'ordre nouveau des Aplosporidies. (Compt. rend. de la soc. de biol. 1899. No. 29. p. 789—791.)

Cohn, L., Zur Systematik der Vogeltänien. III. (Zool. Anzeiger. 1899. No. 599. p. 405—408.)

Dean, G., On a new pathogenic streptothrix. (Transact. of the Jenner instit. of prevent. med. II. ser. London 1899. p. 17—45.)

Dietel, P., Uredineae brasilienses a cl. E. Ule lectae. II. (Hedwigia. 1899. Heft 5. p. 248—259.)

Fautrey, Espèces nouvelles de la Côte d'Or. (Bull. de la soc. mycol. de France. 1899. p. 153.)

Gillette, C. P., Life-history of the sheep scabs Mite, Psoroptes communis. (Canad. entomol. Vol. XXXI. 1899. No. 1. p. 9.)

Gillot, H., Sur la fermentation du raffinose par le Schizosaccharomyces Pombe. (Bullet. de la soc. belge de microsc. T. XXV. 1898/99. No. 7. p. 29—44.)

Harden, A., The fermentation of sugars by bacillus coli communis and allied organisms. (Transact. of the Jenner instit. of prevent. med. II. ser. 1899. p. 126—142.)

Kiefer, J. J., Sur le principe fondamental de la cécidiologie. (Bullet. de la soc. entomol. de France. 1899. No. 9. p. 157.)

Lapp, V., Die Verwendung von Ozon im Gärungsgewerbe. (Eis- u. Kälte-Industrie. 1899. No. 12. p. 121—122.)

Lunt, J., On some organisms of the bacillus coli communis group isolated from drinking-water &. (Transact. of the Jenner instit. of. prevent. med. II. ser. 1899. p. 219—231.)

Macfadyen, A. and **Blaxall, F. R.**, Thermophilic bacteria. (Transact. of the Jenner instit. of prevent. med. II. ser. 1899. p. 162—187.)

Macfadyen, A., An instance of symbiotic fermentation. (Transact. of the Jenner instit. of prevent. med. II. ser. 1899. p. 207—218.)

Mangin, L., Observations sur la membrane des mucorinés. (Journ. de botan. 1899. No. 7. p. 209—216.)

Morris, G. H., The technical applications of bacteriology. (Transact. of the Jenner instit. of prevent. med. II. ser. 1899. p. 188—197.)

Rowland, S., Obervations upon the structure of bacteria. (Transact. of the Jenner instit. of prevent. med. II. ser. 1899. p. 143—161.)

Rübsaamen, E. H., Mitteilungen über neue und bekannte Gallen aus Europa, Asien, Afrika und Amerika. (Entomol. Nachrichten 1899. No. 15/18. p. 225—282.)

Schaudinn, F., Der Generationswechsel der Coccidien und Hämosporidien. Eine Zusammenfassung der neueren Forschungsresultate. (Zoolog. Centralbl. 1899. No. 22. p. 765—783.)

Beziehungen der Bakterien und Parasiten zur unbelebten Natur.

Boden.

Ramann, E., Remelé, C., Schellhorn u. **Krause, M.**, Anzahl und Bedeutung der niederen Organismen in Wald- und Moorböden. (Ztschr. f. Forst- u. Jagdwesen. 1899. Heft 10. p. 575—606.)

Beziehungen der Bakterien und Parasiten zur unbelebten Natur.

Nahrungs- und Genußmittel, Gebrauchsgegenstände.

Bier, Brauerei.

Dormeyer, C., Die rationelle Verwertung der Bierhefe. (Wchschr. f. Brauerei. 1899. No. 43. p. 357—358.)

Schönfeld, F., Studien über eine Bier-Sarcina. (Wchschr. f. Brauerei. 1899. No. 50. p. 665—670.)

Wein, Weinbereitung.

Fallot, B., La fermentation insensible du vin. (Moniteur vinicole. 1899. No. 89. p. 354.)

Andere Nahrungs- und Genußmittel.

Boudeville, G., Les rhums, leur arome, leur maladie. (Moniteur vinicole. 1899. No. 90. p. 358.)

Wohnungen, Abfallstoffe etc.

Podobjedow, E., Ueber Desinfektion mit Formaldehyd. (Mediz. pribawl. k morsk. sborn., Mai) [Russisch.]

Beziehungen der Bakterien und Parasiten zu Pflanzen.

Krankheitserregende Bakterien und Parasiten.

Boyer de la **Giroday, F.**, Note sur la capture des cochylis par les lanternes-pièges. (Rev. de viticult. 1899. No. 308. p. 555—558.)

Cavara, F., Micocecidii fiorali del Rhododendron ferrugineum L. (Malpighia. 1899. fasc. 3. p. 125—136.)

Cordes, H., Ein neuer Feind der Zuckerrübe. (Blätter f. Zuckerrübenbau. 1899. No. 21. p. 329—330.)

Couanon, G., Michon, J. et **Salomon, E.**, Nouvelles expériences relatives à la désinfection antiphylloxérique des plants de vignes. (Compt. rend. de l'acad. d. scienc. T. CXXIX. 1899. No. 20. p. 783—785.)

Forbes, S. A., Recent work on the San Jose scale in Illinois. (Univers. of Illinois agricult. experim. stat., Urbana. Bullet. No. 56. July 1899. p. 241—287.)

Huot, Th. et **Bouchardat, G.**, Sur l'emploi des sels mercuriques et du nitrate d'argent en viticulture. (Rev. de viticult. 1899. No. 307. p. 528—530.)

Kühn, B. L., Auf zum Kampfe gegen den Kohlweißling. (Landwirtschaftl. Ztg. f. ganz Deutschland. 1899. No. 46. p. 6—7.)

Lüstner, G., Werden die Spinnen von der Bordelaiser Brühe getötet? (Mitt. über Weinbau u. Kellerwirtsch. 1899. No. 10. p. 150—151.)

Montemartini, L., La monilia fructigena Pers. e la malattia dei frutti da essa prodotta. (Estr. d. Riv. di patol. veget. 1899.) 8°. 10 p.

Otto, R., „Veltha", ein neuer Krankheitszerstörer für Pflanzen. (Gartenflora. 1899. Heft 21. p. 575—577.)

Petersen, Th., Krankheiten des Hopfens. (Natur. 1899. No. 27. p. 320—321.)

Prillieux et **Delacroix**, La maladie des seillets à Antibes. (Compt. rend. de l'acad. d. scienc. T. CXXIX. 1899. No. 20. p. 744—745.)

Quaintance, A. L., Three injurious insects. Bean leaf-roller. Corn Delphax. Canna leaf roller. (Florida experim. stat. Bullet. 1898. No. 45. p. 53—74.) gr. 8°.

— —, A preliminary report upon the insect enemies of tobacco in Florida. (Florida agricult. experim. stat. Bullet. No. 48. p. 154—188.) Deland, Fla. 1898. gr. 8°.

Scassellati, L., La fillossera e le viti americane. 16⁰. XV, 178 p. Perugia (Domenico Teresi) 1899. 2 £.

Schellenberger, Erfahrungen im Kampfe gegen die Blutlaus. (Fühling's landwirtschaftl. Ztg. 1899. Heft 18, 19. p. 696—697, 724—727.)

Schröder, Ch., Mytilaspis pomorum Bouché an Aepfeln. (Illustr. Ztschr. f. Entomol. 1899. No. 18. p. 281.)

v. Speschnew, N. N., Ueber Parasitismus von Phoma reniformis V. et R. und seine Rolle in der Blackrot-Krankheit der Weintraube. (Ztschr. f. Pflanzenkrankh. Bd. IX. 1899. Heft 5. p. 257—260.)

Tree root-rot. (Agaricus [Armillaria] melleus, Vahl). (Journ. of the Board of Agricult. London 1899 Sept. p. 166—168.)

Weijs, Die Blattbräune der Gerste. Helminthosporium gramineum Erikss. (Prakt. Blätter f. Pflanzenschutz. 1899. Heft 11. p. 82—83.)

Weifs, Die Kiefernschütte und ihre Bekämpfung. (Prakt. Blätter f. Pflanzenschutz. 1899. Heft 11. p. 83—84.)

— —, Hopfenblattsauger. (Ibid. p. 85—86.)

Willis, J. C., Tea blights. (Royal botan. gardens, Ceylon. Circ. Ser. I. 1899. No. 16. p. 189—196.)

Wood leopard moth (Zeuzera Aesculi). (Journ. of the Board of Agricult. London. 1899. Sept. p. 195—198.)

Entwickelungshemmung und Vernichtung der Bakterien.

Harden, A., Action of hydrogen peroxide and the oxides of copper on formaldehyde. (Transact. of the Jenner instit. of prevent. med. II. ser. 1899. p. 232—237.)

Inhalt.

Originalmitteilungen.

Referate.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.

CENTRALBLATT für

Bakteriologie, Parasitenkunde u. Infektionskrankheiten.

Zweite Abteilung:

Allgemeine, landwirtschaftlich-technologische Bakteriologie, Gärungsphysiologie, Pflanzenpathologie und Pflanzenschutz.

In Verbindung mit

Prof. Dr. Adametz in Wien, Prof. Dr. J. Behrens in Karlsruhe i. B., Prof. Dr. M. W. Beijerinck in Delft, Geh. Regierungsrat Prof. Dr. A. B. Frank in Berlin, Dr. v. Freudenreich in Bern, Privatdocent Dr. Lindau in Berlin, Prof. Dr. Lindner in Berlin, Dr. Morris, Chef des Hansen-Laboratory, Jenner-Institute of Preventive Medicine in London, Prof. Dr. Müller-Thurgau in Wädensweil, Dr. Erwin F. Smith in Washington, D. C., U. S. A., Prof. Dr. Stutzer in Breslau, Prof. Dr. Wehmer in Hannover, Prof. Dr. Weigmann in Kiel und Prof. Dr. Winogradsky in St. Petersburg

herausgegeben von

Dr. O. Uhlworm in Cassel

und

Prof. Dr. Emil Christian Hansen in Kopenhagen.

Verlag von Gustav Fischer in Jena.

VI. Bd. Jena, den 20. Februar 1900. No. 4.

Jährlich erscheinen 26 Nummern. Preis für den Band (Jahrgang) 20 Mark.
Preis für eine einfache Nummer 75 Pfg., für eine Doppelnummer 1 Mark 50 Pfg.
Nummern mit Tafeln kosten für jede Tafel 50 Pfg. mehr.

Hierzu als regelmäfsige Beilage die Inhaltsübersichten der I. Abteilung des Centralblattes.

Wünsche wegen Lieferung von besonderen Abdrücken wollen die Herren Mitarbeiter auf die Manuskripte schreiben oder bei Rücksendung der ersten Korrekturabzüge der Verlagsbuchhandlung mitteilen.

Original-Mitteilungen.

Nachdruck verboten.

Ueber die Bildung und den Bau der Bakteriensporen.

Von Stabsarzt Dr. **Mühlschlegel** in Stuttgart.

(Schluß.)

Daß Ein Faktor allein genügen sollte, eine Spore zu werden, halte ich für ausgeschlossen. Ein Entstehen der Spore aus dem interstitiellen Plasma allein wird schon dadurch illusorisch, daß sich allemal die Kugeln dabei sichtbar beteiligen. Ein Entstehen der Spore aus den Kugeln allein ist eher möglich; diese

sind schon oft in genetische Beziehung zu den Sporen gebracht worden. So viele ich aber auch in ihrer Entwickelung beobachtet habe, wozu ich namentlich die langen, schlanken Stäbchen benützte, in denen die Kugeln einreihig gelagert sind (Fig. 2 *z* *α* u. *β*), zu echten Sporen haben sie es nie gebracht. Sie mögen noch so groß sein, ja Sporengröße übertreffen, so sind sie doch durch ihre Form und mehr oder weniger ihren Glanz von den Sporen verschieden. Jeder etwaige Zweifel aber wird durch den erbrachten Beweis vollends gehoben, daß den Kugeln das wichtigste Kennzeichen der Sporennatur, die Fähigkeit auszukeimen, fehlt.

In ein Nährmedium gebracht und unter dem im Wärmekasten stehenden Mikroskop beobachtet, bleiben nämlich die großen Kugeln völlig unverändert; sie zeigen überhaupt keine Reaktion, die wir Leben nennen. Zur Prüfung der Keimfähigkeit im Kulturglase konnte ich natürlich nur ein Material benutzen, das möglichst frei von Sporen war. Solches war nicht selten in dem mehr oder weniger eingetrockneten Bodensatz der Agarkulturen zu bekommen, worin oft Kugeln, größer als Sporen, waren. Während die Kontrollkulturen üppig wuchsen, zeigten diejenigen mit Kügelchenmaterial statt des Ausstrichs nur zählbare Kolonieen.

Nach alledem ist anzunehmen, daß mindestens zwei Organe bei der Sporenbildung beteiligt sind, und zwar sehr wahrscheinlich die Kügelchen und das interstitielle Plasma.

Daß die Substanz dieser beiden thatsächlich einer Umwandlung unterworfen ist, läßt sich färberisch beweisen und verfolgen.

Bei der Doppelfärbung, mag sie nach Neißer oder Möller, mit oder ohne Schwefelsäure, vorgenommen werden, werden die Sporen tief rot, die Kügelchen rosarot, jedenfalls zarter rot als die Spore. Der Unterschied beruht nicht etwa darauf, daß die Spore mit ihrem größeren Durchmesser mehr Farbe aufgenommen hat; er ist auch an Körpern mit gleich großem Durchmesser zu sehen. Fig. 2 *y* veranschaulicht es deutlich. Dieser Farbenunterschied weist auf eine Verschiedenheit der Organsubstanzen hin.

Vor Beginn der Sporenbildung nun haben die im Bereich der späteren Spore liegenden Kügelchen diese hellrote, durch das Blau des interstitiellen Plasmas oft etwas gedeckte Farbe (Fig. 2 *r*). Mit dem Auftreten des grauen Fleckes im lebenden Präparat verschwinden im doppeltgefärbten die beiden Farben und es erscheint eine lilafarbene Fläche (Fig. 2 *s*; Mischung der Kugel- und Füllselsubstanz), dann eine dunkelblaue, dem Rande zu heller blaue Fläche (Fig. 2 *t*) Uebergang der gemischten Substanz in diejenige der Spore; diese Substanz entspricht derjenigen im Keimling (Fig. 2 *b*) und jungen Stäbchen (Fig. 2 *d*) bei dem in umgekehrter Richtung — von der Sporen- zur Protoplasmasubstanz — ablaufenden Umwandlungsprozeß). Nunmehr tritt in der Mitte der blauen Fläche ein kleiner Punkt von dunkelroter Farbe auf (Fig. 2 *u*) Konzentration; erste fertige Sporensubstanz inmitten der des Uebergangs); der Punkt wächst konzentrisch zur Peripherie des Ovals (Fig. 2 *v*; Aufbau der Spore mit Sporensubstanz), bis alles Dunkelblau ver-

schwunden ist. Die fertige Spore hat, wie man an etwa daneben liegenden, nicht zum Aufbau verwendeten Kügelchen sieht, ein anderes Rot als diese (Fig. 2 *w*).

Eine lückenlose, oft wiederholte Veranschaulichung dieses Prozesses dürfte vollauf geeignet sein, von der Beteiligung der Kügelchen und des Füllsels an der Sporenbildung bezw. von der Umwandlung der beiden Plasma in die Sporensubstanz zu überzeugen.

Außer diesem Beweise resultieren aus der Darstellung noch zwei interessante Thatsachen:

1) Der Aufbau der Sporen geschieht nicht, wie Ernst (p. 437) behauptet, von außen nach innen, sondern von innen nach außen, was sich durch das Auftreten des dunkelroten Punktes in der Mitte der blauen Fläche und durch dessen konzentrische Ausdehnung bis zur Größe der reifen Spore kennzeichnet.

2) Die schwere Färbbarkeit der Sporen betrifft nicht, wie vielfach angenommen wird, nur ihre Schale — diese unfertige Spore (Fig. 2 *u*) hat noch gar keine Schale — sondern in erster Linie ihre innere Substanz. Ich werde beim Bau der Spore noch darauf zurückkommen.

Durch die Arbeiten von Frenzel (23), Hegler (25), Ilkewicz (27) und A. Meyer (39) werde ich übrigens veranlaßt, noch besonders darauf aufmerksam zu machen, daß der kleine rote Punkt in der sonst blauen Spore (Fig. 2 *u*) von mir nicht etwa als der eigentliche Kern der Spore aufgefaßt wird.

Beobachten wir unsere junge Spore weiter! Sie rückt jetzt langsam nach der Mitte des Stäbchens hin und den Kügelchen gewissermaßen zu Leibe. Im selben Grade, als sie näher kommt, werden diese dunkler, die nächstliegenden werden kleiner und verschwinden.

Sie scheint sich also, nachdem sie bereits einen scharfen Rand und eine starke Lichtbrechung, sowie die endgiltige Größe angenommen, noch ein wenig zu ernähren. Wenn die Spore aber einen gewissen Entwickelungsgrad erreicht hat, so tritt ein Stillstand der Ernährung ein. Was dann noch an Körnern vorhanden, bleibt neben der Spore bestehen und wird schließlich mit ihr entleert. Schon von Prażmowski (54) [an Bac. ulna], später von L. Klein (31) [an Bac. sessilis], von Bunge (11) [an einem Erdbacillus] wurde ein solcher unaufgebrauchter Plasmarest beobachtet.

Ist der Rest beträchtlich, so ist es möglich, daß eine zweite Spore sich bildet. Ich habe zwar niemals zwei Sporen in einer Zelle konstatieren können; bei genauerer Betrachtung ließ sich immer noch eine zarte Zellgrenze zwischen zwei anscheinend in einer Zelle gelegenen Sporen entdecken. Die Bildung zweier Sporen kommt ausnahmsweise vor bei Bac. inflatus und Bac. ventriculus (A. Koch), bei grünen Kaulquappenbacillen (Frenzel), bei Bac. brassicae (Pommer), bei Ast. asterospora (A. Meyer) und nach Kern (28) regelmäßig bei Dispora caucasica; in letzterem Falle scheint eine Täuschung nicht ausgeschlossen zu sein.

Ein etwa zurückbleibendes größeres Kügelchen als eine zweite rudimentäre oder reduzierte Spore zu deuten, würde trotz der ähnlichen Farbenreaktion nicht angängig sein, weil der ganze Sporen-

bildungsprozeß, insbesondere die Umwandlung der Kügelchen dagegen spricht, und weil einem solchen kugeligen Gebilde die Fähigkeit auszukeimen fehlt.

Die Ernährung, die noch eine Zeit lang nach dem im allgemeinen vollzogenen Aufbau der Spore stattfindet, äußert sich einerseits, wie erwähnt, in dem Verschwinden der dem Sporenpole nächstgelegenen Kügelchen, andererseits in der Umkleidung mit einer Schale. Es wird nämlich, spätestens am 3. Tage, ein doppelter Sporenrand sichtbar, der mit dem Alter an Deutlichkeit gewinnt, so daß er am schönsten bei Sporen aus älteren Kulturen ist. Die zwei am 1. Tage sich fast deckenden Ellipsen rücken schließlich bis 0,5 μ auseinander. Der zwischen beiden liegende Raum ist hellgrau leuchtend; innerhalb der inneren Ellipse ist ein kompakt aussehender, dunkelgrüner, gewölbter, glänzender Körper. (Bei den „Kügelchen", so groß sie auch sein mögen, ist ein Doppelrand nie wahrzunehmen.) Erst wenn die Spore eine sichtbare Schale hat, ist ihre Entwickelung zu Ende.

Wenn wir, wie bei der fertigen Spore, einen kompakten Körper und darum eine Hülle sehen, deren Dicke etwa dem halben Durchmesser des eingeschlossenen Körpers gleichkommt, wie dies bei den vorliegenden Sporen oft der Fall ist, werden wir unwillkürlich an das Verhältnis von „Kern und Schale", wie bei einer Nuß erinnert (Fig. 1 *a, v*; 2 *a, b, c*). Jedenfalls ist hier die Bezeichnung „Membran" für die Hülle nicht mehr angebracht, und die Bezeichnung „Spore" für den Inhalt zu einschränkend. Denn die Hülle erscheint mir, abgesehen von ihrem Verhalten während der Keimung, schon äußerlich zu stark, zu scharf begrenzt und zu konstant auf allen Nährböden, als daß sie nur eine nebensächliche Bedeutung haben sollte. Mit dem vielgenannten Lichthof ist sie nicht zu verwechseln; dieser liegt erst außerhalb der Hülle. Die Vermutung, es könnte die Membran des früheren Bacillenleibes sein, wird dadurch hinfällig, daß die Spore manchmal schon innerhalb der Bacillenmembran die Hülle besitzt. Von dem Gallerthofe, der den Bac. leptosporus Klein (31b) umgiebt, unterscheidet die Hülle sich durch ihr physiologisches Verhalten; denn sie verquillt nicht spurlos, wie dieser, sondern erscheint bei und nach dem Ausschlüpfen des Keimlings als eine allerdings wesentlich dünnere Hülle, als richtige Membran.

Diese abgeworfene Membran (Fig. 1 *g, u*; Fig. 2 *y*) zeigt ein von der ursprünglichen Hülle verschiedenes Aussehen: jene ist klar, dünn und leer, es fehlt ihr die graue Masse, welche die letztere charakterisiert. Diese Veränderung ist noch nirgends besonders erwähnt. Grethe (24) scheint bei den schwanzförmigen Anhängseln der Wurzelbacillensporen Aehnliches beobachtet zu haben, wenn er von ihnen sagt, daß sie nach der Keimung nicht mehr durch ein besonderes Aussehen von dem hellen (entleerten) Teil der Spore zu unterscheiden seien und ihre äußere Form nur noch dadurch zu erkennen geben, daß die Sporenmembran an den Polen oft etwas zugespitzt erscheint. Genau so wie die Gallertmasse dieser Anhängsel, verhält sich der ganze Hof, der den Glanzkörper umgiebt; er ist nach der Keimung nicht mehr vorhanden.

Ich bin daher zu der Anschauung gelangt, daß die Sporen-

hülle aus zwei Schichten besteht, einer inneren, mattgrauen, mehr oder weniger breiten, dem Endosporium, und einer äußeren dünnen, als scharfer Rand erscheinenden, dem Ektosporium.

Die beiden Schichten lassen sich auch färberisch nachweisen. Setzt man zu einem Sporenmaterial, das eine halbe Stunde lang in wenig Bouillon bei 35° stand, sehr verdünnte Methylenblaulösung, so wird nach einiger Zeit bei etwa der Hälfte, d. h. bei allen, deren Glanzkörper — ich werde diesen Ausdruck statt „Sporenkern“ gebrauchen — bereits weich geworden ist, eine Differenzierung in der Weise eintreten, daß sich zuerst das Ektosporium und bald darauf der Glanzkörper färbt, während das Endosporium keine oder nur eine schwachblaue Farbe annimmt (Fig. 2 *b*). Aber auch unter den gewöhnlichen, nicht keimenden Sporen, z. B. alter Bouillon — ich füllte gewöhnlich nur die Kuppe der Kulturgläser — kommen einige vor, die sich ebenso färben. Es ist ja bekannt, daß sich die Sporen wohl im großen ganzen, aber nicht durchweg gleich verhalten. Sonst färbt sich ja bei den Sporen nur die Außenhaut, die als stark hervortretende Linie das Ganze begrenzt. Nach innen zu kommt das helle Endosporium; eine konzentrische, feine Linie markiert die Grenze des Glanzkörpers. Diese Linie ist so zart gegenüber der der Außenhaut, daß ich für den Glanzkörper keine besondere Membran mehr annehmen kann.

Das Endosporium erreicht namentlich in Nährflüssigkeiten wie Bouillon eine ganz beträchtliche Dicke, was auf eine quellbare Eigenschaft schließen lassen könnte. Aber auch in halbjährigen, vollständig eingetrockneten Agarkulturen findet man es noch bis 0,6 μ breit.

In solchem Sporenmaterial wird man, wenn auch selten, doch ab und zu Exemplare finden, wo die ganze Hülle gefärbt ist. Sie erscheint dann als eine auffallend dicke Linie (bis zu 0,7 μ breit), die den durch das Blau verkleinert aussehenden Glanzkörper umkleidet. Im Gegensatz zu den vorigen sind hier also Fälle, wo sich das Endosporium färbt (Fig. 2 *c*). Ich habe eine Menge Präparate durchmustert, um zu sehen, wie sich die innere Schicht, falls sie sich färbt, zur Außenschicht und zum Glanzkörper verhält, und habe gefunden, daß sich, abgesehen von jenen Fällen, wo sich die Spore im ganzen färbt, das Endosporium immer nur mit dem Ektosporium, nie aber mit dem Glanzkörper zusammen färbt. Auf Grund dieser Befunde nahm ich an, daß die innere Schicht und die Außenhaut zusammengehören und die Schale bilden, und benannte sie dementsprechend.

Nachdem ich vorliegende Arbeit fast abgeschlossen hatte, fand ich in der vortrefflichen Abhandlung Arthur Meyer's (39) zu meiner Freude teilweise übereinstimmende Anschauungen. A. Meyer hat an der Membran der Sporen von Astasia asterospora auf andere Weise (mittels Reagentien) zwei Schichten nachweisen können, eine gelbliche Exine und eine farblose und schwach lichtbrechende Intine, welche Ausdrücke er empfiehlt. Dagegen glaubt er, daß der Glanzkörper, den er der Gestalt halber Stäbchen nennt, wahrscheinlich eine eigene Membran besitzt, jedenfalls bei der Keimung eine solche bildet

In der Litteratur konnte ich im übrigen von einem feineren Bau der Sporenhülle nichts finden; nur Burchard (12) hat bei einer Bakterienart (Bact. petroselini) beobachtet, daß nacheinander an demselben Keimstäbchen zwei verschiedene Sporenhäute abgeworfen werden, von welchen die erste dunkler und derb, die letztere sehr zart und hell ist. Eine solche Trennung der Schale in zwei Häute konnte ich niemals beobachten. Was nach der Keimung zurückblieb, stellte nur das Ektosporium vor (Fig. 1 *g*; Fig. 2 *d*); das Endosporium ist, trotzdem es die dickere Schicht war, anscheinend spurlos verschwunden.

Es ist aber wahrscheinlich, daß das Endosporium zur Membran des Keimstäbchens umgewandelt wird. Denn ich habe gesehen, daß der Glanzkörper, zur Keimung angeregt, zugleich mit der Quellung und der Abnahme seiner Lichtbrechung an Deutlichkeit seiner Begrenzung auffallend einbüßt und sie schließlich ganz verliert; ferner, daß hierauf der Keimling noch innerhalb des undurchbrochenen Ektosporiums die Stäbchenform annimmt, indem er sich von demselben durch einen vollständig leeren Raum trennt, ohne sich bis zum Volumen des früheren Glanzkörpers zu verkleinern; ferner, daß, so lange das Endosporium als Hof vorhanden, der Glanzkörper stets kleiner ist, als das Keimstäbchen kurz vor oder während der Keimung, wenn der Hof verschwunden ist; und endlich, daß nach der Keimung lediglich das Ektosporium zurückbleibt. Diese meine Annahme steht im Gegensatz zu derjenigen A. Meyer's, wonach die Intine bei der Keimung der Spore erhalten bleibt.

Daß das Keimstäbchen bei der Keimung bereits eine Membran besitzt, dürfte aus verschiedenen Gründen zu schließen sein: zunächst aus der eben erwähnten Beobachtung, daß dasselbe bei fehlendem Endosporium dicker erscheint, als der Glanzkörper bei vorhandenem Endosporium — ferner aus dem Umstand, daß es bei der Ernstschen Färbung eine braune äußere und eine grünblaue innere Partie zeigt; endlich daraus, daß es beim Ausschlüpfen von dem derben Ektosporium wie von einer umfassenden Zange zwar manchmal tief eingedrückt, nie aber durchkniffen wird.

Das Ektosporium ist derb und elastisch. Dafür spricht u. a. die Thatsache, daß es manchmal stark gedehnt werden kann, und daß es, sobald es einen Riß bekommt, sich unter Abhebung seiner Kappen zurückzieht. Gerade dieser Umstand, als auch der, daß es an dem Stäbchenende sitzend (Fig. 1 *f*; Fig. 2 *d*) auseinandergehalten wird, ohne von der umgebenden Flüssigkeit eingedrückt zu werden, fällt für die Annahme einer gewissen Derbheit mehr ins Gewicht, als der oft hierfür angeführte, daß es nach der Abstreifung seine Form wieder annimmt. Hier ist durch das Loch die Flüssigkeit eingetreten und hat den inneren und äußeren Druck ausgeglichen; dort aber herrscht innerhalb des Ektosporiums ein negativer Druck, da das im Ausschlüpfen begriffene Stäbchen ein Eindringen der Flüssigkeit mehr oder weniger verhindert.

Ob das Ektosporium bei der Keimung reißt oder resorbiert oder erweicht wird, das ist schwierig zu entscheiden. Ich glaube, daß

selten eine dieser Möglichkeiten allein vorliegt, daß sie vielmehr ineinander übergehen und im einzelnen Falle bald die eine, bald die andere eine größere Rolle spielt. Sicher handelt es sich hauptsächlich um eine Zerreißung der Haut da, wo die eine Hälfte noch dem wachsenden Stäbchen aufsitzt, die andere wie eine Eierschale daneben schwimmt; wahrscheinlich da, wo die Haut von dem andrängenden Stäbchen seitlich oder polar ausgebuchtet wird. Von einer Erweichung oder Resorption wird in jenen Fällen die Rede sein, wo der Keimling schräg zur Längsachse der Haut steht und in dieser Lage keinen Druck ausüben kann. Eine Erweichung wird jedenfalls überall mehr oder weniger in Betracht kommen; denn sobald ein Stäbchen keimreif geworden ist, fällt die Sporenhaut der Auflösung anheim. Wie rasch diese vor sich geht, sieht man daran, daß abgestreifte Sporenhäute schon nach 3 Stunden unsichtbar werden können.

Wenn das Ektosporium rings herum gleich stark ist, darf es nicht verwundern, wenn bei ein und derselben Bacillenart die Keimung auf verschiedene Weise erfolgt. Schon Pommer (53) hat an seinem Bac. brassicae gefunden, daß die Sporenhaut nicht immer an ein und derselben Stelle durchbrochen wird, sondern manchmal am Pol, manchmal am Aequator oder auch an anderen dazwischen liegenden Punkten. Und neuerdings hat Grethe (24) an einem aus einem Papagei gezüchteten Bacillus die Keimung manchmal „zweifellos seitlich, manchmal nur polar, meistens dazwischen liegend“ erfolgen sehen, ferner an Heubacillen ebenfalls alle Uebergänge von der äquatorialen bis zur polaren Keimung konstatieren können. Durch diesen letzten Befund erklären sich auch die auseinandergehenden Beobachtungen von so bewährten Forschern, wie Cohn (14) und Prażmowski (54): Jener sah die Sporen des Bac. subtilis polar, dieser äquatorial auskeimen. Und die Angaben über verschiedenartige Auskeimung scheinen sich zu mehren. Angesichts eines solchen Wechsels lassen sich die Verschiedenheiten der Keimungsvorgänge nicht zu den wichtigsten und unveränderlichsten Artmerkmerkmalen zählen und differentialdiagnostisch kaum verwerten.

Ueber die Ursache der schweren Färbbarkeit der Sporen, ob es die Beschaffenheit der Membran oder die des Inhalts ist, war bis vor ein paar Jahren noch die Ansicht z. B. von Kinscherf (29) vertreten, daß daran die Membran schuld sei. Bunge war der Erste, der hierfür die Substanz der Spore anschuldigte. Er fand, daß bereits die ersten Anfänge der Sporen, die wahrscheinlich überhaupt noch keine Membran besitzen, sich ebenso widerstandsfähig gegen Färbungen zeigen, wie reife Sporen; es fiel ihm auch auf, daß manchmal die Membran gewisse Farbstoffe leicht aufnahm, während der eigentliche Inhalt der Spore dieselben verschmähte. Auch Grethe (24) schiebt hierin der Membran nur eine untergeordnete Rolle zu, da (in fixierten Präparaten) angekeimte Sporen, die ihre starke Lichtbrechung verloren hatten, sich trotz der noch vorhandenen Membran der Sporenfärbung und gewöhnlichen Anilinfarben gegenüber ebenso verhielten, wie vegetative Stäbchen; diese auffallende Eigenschaft der Sporen führte er auf eine durch die eingedrungene Nährflüssigkeit erzeugte Veränderung der Sporensubstanz zurück und

meinte, so gut die Membran die Nährflüssigkeit durchlasse, ebensogut müsse sie auch für die Farbstofflösung durchgängig sein. A. Meyer (39) hält dies nicht für notwendig und spricht der Membran eine wichtige Rolle beim Verhalten gegen Farblösungen zu. Er selbst hat aber gezeigt, daß die Membran, samt dem Inhalt mit Karbolfuchsin gefärbt, in salzsaurem Alkohol sich entfärbt und mit Methylenblau leicht nachfärbt, während der Sporeninhalt die erste Farbe beibehält. Auch Migula (40b) ist der Ueberzeugung, daß die schwere Färbbarkeit eine Eigenschaft des Sporenplasmas ist und auf dessen Gehalt an wasserfreiem Eiweiß beruht, daß die Membran aber insofern eine Rolle dabei spielt, als sie die Aufnahme von Wasser in das Sporenplasma erschwert.

Meine doppelfärberischen Darstellungen des Bildungsganges der Spore schließen jeden Zweifel daran aus, daß die Substanz des „Kernes“ bezw. des Glanzkörpers schuld ist. Denn es entsteht im Centrum der sich aufbauenden Spore ein roter Punkt schon zu einer Zeit, wo noch gar keine Sporenmembran oder -schale vorhanden ist (Fig. 2 *u*, *v*). Im einfarbig gefärbten Trockenpräparate desselben Stadiums wird statt des roten ein heller Punkt sichtbar, welcher sich dann bis an den Rand des sich allmählich deutlicher konturierenden Sporenovals vergrößert (Fig. 2 *g*).

Ich möchte nicht verfehlen, hier noch Beobachtungen über die Keimung mitzuteilen, soweit sie auf die Veränderung der Sporensubstanz und -schale Bezug haben. Was zunächst die Dauer der vielfach angenommenen Erweichung der Schale bis zum Durchbruch, d. h. die Zeit von der Saat bis zur Keimung, betrifft, so finden sich für ein und dieselbe Sporenart verschiedene Angaben. Grethe (24) hat beim Wurzelbacillus die erste Keimung schon in 1—$1^1/_2$ Stunden, de Bary (4b) erst in 8—12 Stunden wahrnehmen können. Ich habe die Beobachtung gemacht, daß, je jünger die Sporen der Körnerbacillen waren, sie desto rascher keimten, frühestens aber in $1^1/_4$ Stunden; halbjährige Sporen brauchten 6 Stunden. Daß sich nicht alle Sporen ein und derselben Aussaat gleich verhalten, ist ja bekannt. Diejenigen mit einer dicken Schale ließen länger auf sich warten. Manche anscheinend gesunde haben sich nach 24 Stunden noch nicht verändert; sie kamen wohl überhaupt nicht zur Auskeimung. Von solchen endlich, die keinen Glanzkörper besaßen, war von vornherein nichts zu erwarten; es waren „taube“ Sporen.

Die jungen Stäbchen bieten in ihrem Verhalten gegen Farbstoffe eine bemerkenswerte Verschiedenheit gegenüber den bei den Bakterien gewöhnlich gemachten Beobachtungen. Das erste Stäbchen sowohl als auch die 4—8 nächstfolgenden zeigen bei Entfärbungsversuchen mit salzsaurem Alkohol und bei der Ernst'schen Färbung die Eigenschaft, aufgenommene Farbstoffe fest zu behalten (Fig. 2 *m*); der Entfärbungskraft der Schwefelsäure können sie natürlich nicht widerstehen. Da diese Eigenschaft auch den keimenden Sporen zukommt, so ist anzunehmen, daß die ersten Generationen noch eine gewisse Menge von der den Sporen nahestehenden Substanzen in sich haben und daß sie hinsichtlich derselben einen allmählichen Uebergang zu den vollwertigen Vegetations-

formen darstellen können. In einer ähnlichen Beobachtung Grethe's ist der Uebergang bereits bei der zweiten Generation abgeschlossen. Es ist schwierig, hierfür eine Grenze festzulegen, da sie von verschiedenen Umständen abhängig ist. Abgesehen davon, daß Verschiedenheiten in Präparaten von ein und derselben Kultur auf kleinste technische Unterschiede zurückzuführen sind, können Nährböden, Temperatur u. s. w. die Ursache sein. So fand ich z. B., daß bei 22° die Stäbchen die erwähnte Eigenschaft selbst dann noch besaßen, als sie schon ganz deutlich differenziert waren.

Der Eigenschaft der jüngeren Bakterien, einmal aufgenommene Farbstoffe fester zu halten, als wir es an älteren zu sehen gewohnt sind, kommt insofern eine praktische Bedeutung zu, als bekanntlich die Gram'sche Färbung bei ein und derselben Bakterienart negativ und positiv ausfallen kann und deshalb schon zu Kontroversen führte. Czaplewski (16b) hat bereits vermutet, daß hierbei Altersunterschiede eine Rolle spielen können.

Das Gesamtergebnis der vorliegenden Untersuchungen läßt sich in folgende Schlußsätze zusammenfassen:

1) Der Sporenbildung geht gewöhnlich die Bildung deutlicher Kügelchen in Protoplasten voraus; dann erscheint, sich an einen Pol anlehnend, ein grauer Fleck, der von vornherein annähernd die Größe der späteren Spore hat und die Kügelchen zum Verschwinden bringt.

2) Die Sporenbildung kommt zustande durch die Vereinigung der Kügelchen mit dem interstitiellen Plasma (Füllsel); die Vereinigung wird wahrscheinlich durch einen Kern ausgelöst.

3) Die Kügelchen als solche sind zur Sporenbildung nicht unbedingt erforderlich; sind keine Kügelchen oder Körner sichtbar, so sind sie, oder eine mehr oder weniger ähnliche Substanz, im Protoplasten aufs feinste verteilt.

4) Die Vereinigung bezw. die Umwandlung der Kügelchen und des interstitiellen Plasmas in Sporensubstanz läßt sich färberisch nachweisen.

5) Der Aufbau der Spore geschieht von innen nach außen; er schließt mit der Anlegung einer Schale, wozu die nächstliegenden Kügelchen verwendet werden.

6) Die Sporenschale besteht aus 2 Schichten, dem mattgrauen, breiteren Endosporium und dem dünnen, als scharfe Linie erscheinenden Ektosporium. Die beiden Schichten lassen sich färberisch nachweisen.

7) Die Eigenschaft der Sporen, sich schwer zu färben, liegt zunächst in der Substanz des „Sporenkerns", des Glanzkörpers, und dann in derjenigen der Schale; das Endosporium ist schwer färbbar; es kann die Farbstoffe durchlassen, ohne sie selbst anzunehmen.

8) Das Endosporium wird zur Membran des Keimstäbchens umgewandelt; das Ektosporium wird bei der Keimung abgeworfen.

9) Die jüngsten Vegetationsformen (nach der Keimung) enthalten in abnehmender Menge noch eine den Sporen nahestehende Substanz.

12. Dezember 1899.

Litteratur.

1) Altmann, Die Elementarorganismen und ihre Beziehungen zu den Zellen. 1894.
2) Apathy, Ueber die Schaumstruktur. (Biol. Centralbl. Bd. XI. No. 3 u. Nachtrag No. 4.)
3) Babes, a) Ueber isoliert färbbare Anteile von Bakterien. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. V. 1889).
b) Betrachtungen über metachromatische Körperchen und Sporenbildung. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. XX. 1895.)
4) de Bary, a) Vergleichende Morphologie und Biologie der Pilze. Leipzig 1884.
b) Vorlesungen über Bakterien. 1885.
5) Baumgarten, Lehrbuch der pathologischen Mykologie. 1890.
6) Berthold, citiert in: Bütschli, Weitere Mitteilungen über die Struktur des Protoplasmas. (Biol. Centralbl. Bd. X. 1890. p. 697.)
7) Birch-Hirschfeld, Ueber die Züchtung von Typhusbacillen in gefärbten Nährlösungen. (Arch. f. Hyg. Bd. VII.)
8) Brefeld, Untersuchungen aus dem Gesamtgebiete der Mykologie. Leipzig 1889.
9) Buchner, Ueber die vermeintlichen Sporen der Typhusbacillen. (Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. IV. 1888. No. 12 u. 13.)
10) Bütschli, a) Ueber den Bau der Bakterien und verwandter Organismen. Leipzig 1890.
b) Weitere Ausführungen über den Bau der Cyanophyceen und Bakterien. Leipzig 1896.
c) Ueber die Struktur des Protoplasmas. (Verhandl. d. naturhist.-med. Vereins zu Heidelberg. N. F. Bd. IV. Heft 3.)
11) Bunge, Ueber Sporenbildung bei Bakterien. (Fortschr. d. Med. Bd. XIII. 1895. No. 20 u. 21.)
12) Burchard, Dissertation. Karlsruhe 1897. (Citiert bei Migula. 1897. p. 188.)
13) Buttersack, Beiträge zur Desinfektionslehre und zur Kenntnis der Kresole. (Arb. a. d. kais. Ges.-A. Bd. VIII. 1893. Heft 2.)
14) Cohn, Untersuchungen über Bakterien. (Beitr. z. Biol. d. Pflanzen. Bd. I u. II. 1872 u. 1876. Heft 2.)
15) Coppen-Jones, Ueber die Morphologie und systematische Stellung des Tuberkelpilzes. (Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XVII. 1895. No. 1.)
16) Czaplewski, a) Die Untersuchung des Auswurfs auf Tuberkelbacillen. 1891.
b) Bemerkungen zur Gram'schen Methode der Bakterienfärbung. (Hyg. Rundschau. 1896. No. 21.)
17) Duclaux, Sur la structure des bactéries; revue critique. (Ann. de l'Inst. Pasteur. T. X. 1896. No. 12.)
18) Eisenschitz, Ueber die Granulierung der Hefezellen. (Centralbl. f. Bakt. etc. II. Abt. Bd. I. 1895. No. 18/19.)
19) Ernst, a) Ueber den Bacillus der Xerose und seine Sporenbildung. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. IV. 1888.)
b) Ueber Kern- und Sporenbildung in Bakterien. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. V. 1889.)
20) Finkler u. Prior, Forschungen über Cholerabakterien. (Ergänzungshefte zum Centralbl. f. allg. Gesundheitspflege. Bd. I. 1885.)
21) Fischer, A., a) Die Plasmolyse der Bakterien. (Ber. d. kgl. sächs. Ges. d. Wiss. zu Leipzig. Bd. XXIII. 1891.)
b) Untersuchungen über Bakterien. (Pringsheim's Jahrb. f. wiss. Botanik. Bd. XXVII. 1895. Heft 1.)
c) Vorlesungen über Bakterien. 1897.
22) Foth, Zur Frage der Sporenbildung. (Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XI. 1892.)

23) Frenzel, a) Ueber den Bau und die Sporenbildung grüner Kaulquappenbacillen (Zeitschr. f. Hyg. Bd. XI. 1892.)
b) Der Zellkern und die Bakterienspore. (Biol. Centralbl. Bd. XI. 1891.)
24) Grethe, Ueber die Keimung der Bakteriensporen. (Fortschr. d. Med. Bd. XIX. 1897.)
25) Hegler, Ueber Krankheitserscheinungen. (Sitz.-Ber. d. bot. Sekt. d. 67. Versamml. deutsch. Naturf. u. Aerzte in Lübeck. 1895.)
26) Hueppe, a) Die Formen der Bakterien und ihre Beziehungen zu den Gattungen und Arten. 1886.
b) Die Methoden der Bakterienforschung. Wiesbaden 1891.
c) Ueber die Dauerform der sog. Kommabacillen. (Fortschr. d. Med. Bd. III. 1885. No. 19.)
27) Ilkewicz, Ueber die Kerne der Milzbrandsporen. (Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XV. 1894.)
28) Kern, Ueber ein neues Milchferment aus dem Kaukasus. (Bull. de la Soc. Imp. des naturalistes de Moscou. 1881. No. 3.)
29) Kinscherf-Ernst, Färbungsversuche an Sporen mit Hilfe der Maceration. (Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XVI. 1894.)
30) Klebs, Die allgemeine Pathologie. 1. Teil. 1887.
31) Klein, L., a) Ueber einen neuen Typus der Sporenbildung bei den endosporen Bakterien. (Ber. d. deutsch. bot. Ges. Bd. VII. 1889.)
b) Botanische Bakterienstudien. (Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. VI. 1889.)
32) Koch, A., Ueber Morphologie u. Entwickelungsgeschichte einiger endosporer Bakterienformen. (Bot. Ztg. 1888. No. 18.)
33) Koch, R., Die Aetiologie der Tuberkulose. (Mitteil. a. d. kais. Ges.-A. Bd. II. 1884.)
34) Lauterborn, Ueber Bau und Kernteilung der Diatomeen. (Verhandl. d. naturhist.-med. Vereins zu Heidelberg. 1893.)
35) Loeffler, a) Eine neue Methode zum Färben der Mikroorganismen, im besonderen ihrer Wimperhaare und Geißeln. (Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. VI. 1889. No. 8.)
b) Untersuchungen über die Bedeutung der Mikroorganismen für die Entstehung der Diphtherie. (Mitteil. a. d. kais. Ges.-A. Bd. II. 1884.)
36) Löwit, Zur Morphologie der Bakterien. (Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XIX. 1896. No. 18/19.)
37) v. Malapert, Zeitschr. f. analyt. Chemie. Bd. XXV. 1886. p. 39.
38) Metschnikoff, Ueber die phagocytäre Rolle der Tuberkelriesenzellen. (Virch. Arch. Bd. CXIII. 1888.)
39) Meyer, A., Studien über die Morphologie und Entwickelungsgeschichte der Bakterien, ausgeführt an Astasia asterospora A. M. und Bacillus tumescens Zopf. (Flora. Ergänzungsband. Bd. LXXXIV. 1897. Heft 3.)
40) Migula, a) Ueber den Zellinhalt von Bac. oxalaticus Zopf. (Arb. a. d. bakt. Institut der Hochschule in Karlsruhe. 1894.)
b) System der Bakterien. Jena 1897.
41) Mitrophanow, Ueber Zellgranulationen. (Biol. Centralbl. Bd. IX. 1889.)
42) Möller, Ueber eine neue Methode der Sporenfärbung. (Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. X. 1891. No. 9.)
43) Mühlschlegel, Ein Beitrag zur Morphologie und Entwickelungsgeschichte der Bakterien nach Studien an drei Körnerbacillen. (Arbeiten a. d. Kais. Gesundheitsamt. Bd. XV. 1898.)
44) Nadson, Ueber den Bau des Cyanophyceenprotoplasten. (Scripta botanica. Petersburg 1895.)
45) Neelsen, Studien über blaue Milch. (Beitr. z. Biol. d. Pflanzen. Bd. III.)
46) Neißer, A., Versuche über die Sporenbildung bei Xerosebacillen, Streptokokken und Choleraspirillen. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. XIV. 1888.)
47) Neißer, M., Zur Differentialdiagnose des Diphtheriebacillus. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. XXIV. 1887.)
48) Palla, Beitrag zur Kenntnis des Baues des Cyanophyceenprotoplasten. (Pringsheim's Jahrbücher f. wiss. Botanik. 1893.)
49) Peters, Die Organismen des Sauerteigs und ihre Bedeutung für die Brotgärung. (Bot Ztg. 1889.)
50) Pfeffer, Ueber Aufnahme von Anilinfarben in lebende Zellen. (Unters. a. d. bot. Institut zu Tübingen. Bd. II. 1886.)

51) Pfeiffer, Die Spirillen, in: Flügge, Die Mikroorganismen. II. Teil. 1896.
52) Pfuhl, Zur Sporenbildung der Typhusbacillen. (Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. IV. 1888. No. 25.)
53) Pommer, Ein Beitrag zur Kenntnis der fadenbildenden Bakterien. (Mitteil. des bot. Instituts zu Graz. Bd. I. 1886.)
54) Prażmowski, Untersuchungen über die Entwickelungsgeschichte und Fermentwirkung einiger Bakterienarten. Leipzig 1880.
55) Protopopoff, Sur la structure des bactéries. (Ann. de l'Inst. Pasteur. 1891.)
56) Raum, Zur Morphologie u. Biologie der Sproßpilze. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. X. 1891.)
57) Schewiakoff, Ueber einen neuen bakterienähnlichen Organismus des Süßwassers. Heidelberg 1893.
58) Schmitz, Untersuchungen über die Struktur des Protoplasmas und der Zellkerne der Pflanzenzellen. (Sitzungsber. d. Niederrhein. Ges. f. Natur- u. Heilkunde zu Bonn. 1880.)
59) Schottelius, Beobachtung kernartiger Körper im Innern von Spaltpilzen. (Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. IV. 1888. No. 23.)
60) Schwarz, citiert in: Bütschli, Weitere Mitteilungen über die Struktur des Protoplasmas. (Biol. Centralbl. Bd. X. 1890. p. 697.)
61) Sjöbring, Ueber Kerne und Teilungen bei den Bakterien. (Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XI. 1892.)
62) Steinhaus, Beitrag zur Lehre von den sog. sporogenen Körnern. (Vortrag in d. biol. Sektion d. Warschauer Naturforschergesellsch., ref. Biol. Centralbl. Bd. IX. 1889.)
63) Straus, J., Sur la morphologie de la cellule bactérienne. (Progès médical. 1891.)
64) Strasburger, Das botanische Praktikum. 1884.
65) Trambusti und Galeotti, Neuer Beitrag zum Studium der inneren Struktur der Bakterien. (Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XI. 1892.)
66) Vignal, Contribution à l'étude des bactériacées. Paris 1889.
67) Wager, On a nuclear structure in the Bacteria. (Annal. of Botany. Vol. V. 1891.)
68) Wahrlich, Bakteriologische Studien. (Scripta botanica. Petersburg 1890—91.)
69) Weigert, Neue Vererbungstheorie. (Schmidt's Jahrb. 1887. p. 89.)
70) Winogradsky, Beiträge zur Morphologie und Physiologie der Bakterien. 1888.
71) Zacharias, a) Beiträge zur Kenntnis des Zellkerns und der Sexualzellen. (Bot. Ztg. 1887.
b) Ueber die Zellen der Cyanophyceen. (Bot. Ztg. 1890 u. 1892.)
72) Zopf, Die Spaltpilze. 1885.
73) Zukal, Ueber den Zellinhalt der Schizophyten. (Sitzungsber. d. kais. Akad. d. Wissensch. Wien 1892.)

Sind Bakterien die Ursache der Tabakfermentation?

Von **Oscar Loew** in Washington, D. C., U. S. Departm. of Agriculture.

Die Veränderungen, welche in den „fermentierenden" Tabakshaufen vor sich gehen und die Entwickelung des Aromas im Gefolge haben, wurden bekanntlich der Thätigkeit von Bakterien zugeschrieben, eine Ansicht, welche ich früher selbst für die wahrscheinlichste gehalten habe. Erst als ich aus dem Innern fermentierender Haufen Blätter entnahm und den auffallend geringen Wassergehalt beoachtete, begannen mir Zweifel aufzusteigen; denn die Bedingungen für eine gedeihliche Entwickelung von Bakterien schienen mir hier nicht realisiert zu sein. Eingehende mikroskopische Untersuchungen der Blattoberfläche belehrten mich denn auch bald, daß gar kein Bakterienbelag vorhanden ist. Aber auch in den Intercellularräumen der Blätter fanden sich keine Kolonieen, wie die Untersuchung der zer-

drückten Blätter ergab. Wohl sieht man hier und da sporenartige Kügelchen, aber man kann lange suchen, ehe man in dem von befeuchteten Blättern Abgeschabten etwas findet, das einem Bacillus ähnelt.

Die von mir beobachteten „fermentierenden" Tabakshaufen bestanden aus Deckblättern, welche in Florida gewachsen waren und ein vorzügliches Aroma lieferten, sie waren nicht mit faulenden Flüssigkeiten bespritzt (petuned) worden, was meiner Untersuchung sehr günstig war. Der Wassergehalt dieser Blätter betrug meistens zwischen 20 und 25 Proz. und ging in einzelnen Fällen bis auf 18 herab und auf 26 hinauf. Mit steigendem Wassergehalt besteht große Gefahr für die Qualität der Deckblätter, sie erweichen und bekommen schließlich Löcher. Bei Blättern, welche als Einlage verwendet werden, ist dieser Umstand weniger von Bedeutung und wird dem Wassergehalt bei weitem nicht so viel Aufmerksamkeit geschenkt wie bei Deckblättern; sie enthalten bis 35 Proz. Wasser und darüber. Es verdient bemerkt zu werden, daß wenn Tabaksblätter mit 25 bis 26 Proz. Wassergehalt nach wiederholtem Umsetzen sich nicht mehr von selbst erwärmen, ein erhöhter Wasserzusatz die Selbsterwärmung wieder herbeiführt.

Tabakblätter bewahren bei 20—25 Proz. Wassergehalt noch ein trockenes Aussehen und fühlen sich auch noch ganz trocken an. Sie sind in diesem Zustand, wenn überhaupt, nur ein höchst ungünstiges Substrat für verschiedene Pilze. So fand Behrens kürzlich[1]), daß Botrytis nicht mehr auf fermentiertem Tabak gedeiht, wenn dessen Wassergehalt unter 30 Proz. sinkt, und Splendore beobachtete[2]), daß der von ihm entdeckte Pilz Oospora Nicotianae nicht mehr darauf gedeiht, wenn der Wassergehalt unter 26 Proz. sinkt. Nun machen aber bekanntlich Bakterien noch größere Ansprüche an den Wassergehalt des Substrats als andere Pilze, und ist daher die Abwesenheit eines Bakterienbelags auf den „fermentierenden" Tabakblättern im Einklang mit dieser Erkenntnis. Auf gewisse Mikroben, die Fäulnismikroben, übt das fermentierte Blatt eine auffallend ungünstige Wirkung aus; denn ein infiziertes Stückchen Fleisch in ein solches Blatt gewickelt, zeigte nach mehreren Tagen weder einen deutlichen Bakterienbelag noch eine Spur fauligen Geruchs, während im Kontrollversuch mit grünem Tabaksblatt starke Fäulnis zu bemerken war. Dieser einfache Versuch sollte, wie in meiner ursprünglichen Abhandlung hervorgehoben wurde, nichts weiter zeigen, als daß ein fermentierendes Tabaksblatt bei geringem Wassergehalt kein Entwickelungssubstrat für Fäulnisbakterien ist[3]). Es folgt hieraus aber weiter, daß der in gut fermentiertem Tabak wohl stets vorhandene Ammoniakgehalt nicht auf einen Fäulnisvorgang zurückgeführt werden darf, wie mehrere Tabak-Autoren es gethan haben.

---

1) Landw. Versuchsstat. Bd. LII. 225.

2) Revista tecnica, Rom 1899.

3) Curing and Fermentation of Cigar Leaf Tobacco. (U. S. Department of Agriculture, Washington 1899.) Es heifst auf p. 22: „Indeed, the juice of the fermented tobacco leaves acts as an antiseptic upon the ordinary bacteria of putrefaction."

Es sei hierzu nebenbei bemerkt, daß Bakterien enthaltende ammoniakalische Flüssigkeiten keineswegs in Amerika im allgemeinen Gebrauche sind, um die Fermentation zu befördern. Die intelligenteren Fabrikanten in Florida wenden überhaupt keine bakterienhaltige Flüssigkeit an, sondern eine frisch bereitete Lösung von kohlensaurem Ammoniak und auch das nur, wenn der Tabak keine Neigung zeigt, sich von selbst genügend zu erwärmen. In manchen Staaten der Union wird zum Besprengen ferner gar keine ammoniakalische Flüssigkeit, sondern eine Mischung von sauerem Wein mit Melasse, Rum oder Süßholzextrakt verwendet. Aber auch wenn jede Besprengung mit organischen Stoffen unterbleibt, ist der Ammoniakgehalt der fermentierenden Haufen schon durch den Geruch sofort wahrzunehmen. Dieses Ammoniak rührt wahrscheinlich zum Teil von zerstörtem Nikotin her.

Während verdünntes Tabakextrakt ferner, wie bekannt, ein günstiges Substrat für vielerlei Bakterien bildet, ist das bei steigenden Konzentrationen nicht mehr der Fall. Ein Extrakt von 26-proz. Gehalt bildet an der Luft weder Bakterienhaut noch Trübung noch Bodensatz von Bakterien, wenn auch nach 10 Tagen die mikroskopische Untersuchung eine sehr spärliche Vegetation erkennen läßt. Bei 30-proz. Gehalt[1]) sterilisiert und mit einem Stückchen eben dachreif gewordenen Tabaks infiziert, entwickeln sich bei 25—30° C gar keine Bakterien, sondern nur etwas Mycel. Wenn die dachreifen Tabaksblätter aber mit weit erheblicheren Mengen Wasser befeuchtet werden, als bei Deckblättern üblich, so daß nun verdünnte Extraktlösungen aus dem Innern der Zellen an die Oberfläche gelangen können, dann können selbstredend üppige Vegetationen von Bakterien auftreten, wie beim Sauerkraut, und daß diese dann „das Aroma beeinflussen" können, wird Niemandem einfallen zu bestreiten. Clostridium butyricum oder Bacillus pyocyaneus würden hier vielleicht interessante Resultate liefern, wenigstens bei Einlagetabak. (Bei Deckblättern würde, wie erwähnt, ein höherer Wassergehalt sich von selbst verbieten.) Aber es ist ein Irrtum, zu glauben, daß das spezifische Tabakaroma ein Bakterienprodukt ist, denn dieses bildet sich auch unter Bedingungen, unter welchen gar keine Bakterien gedeihen können[2]).

Meine vor einiger Zeit in englischer Sprache erschienene oben erwähnte Mitteilung wurde vor kurzem von Behrens kritisiert, welcher unter anderen einwarf, daß ich keine Kulturmethoden angewendet hätte[3]). Darauf kann ich nur erwidern, daß es nutzlos gewesen wäre, nachdem kein Bakterienbelag vorhanden war. Eine solche Untersuchung hätte mich ebenso irregeführt, wie alle meine Vorgänger, welche auf ihren Platten Kolonieen aus inaktiv gewesenen

---

1) Solche und höhere Konzentrationen sind in den „fermentierenden" Deckblättern anzunehmen.

2) Nach einer gütigen Privatmitteilung aus Rom hat man in der dortigen Tabakmanufaktur seit Jahren vergeblich versucht, mittels Bakterienkulturen von Tabaksblättern das Aroma beim „Fermentieren" zu verbessern.

3) Dieses Centralblatt. Bd. V. No. 21.

Mikroben oder Sporen entwickelten. Einen Versuch habe ich aber trotz alledem gemacht und als Hauptmikroben den Bacillus subtilis aufgefunden, dessen resistente Sporen ja fast überall vorkommen. Mikroben müßten sich doch bei Ausübung ihrer Thätigkeit auf dem Tabakblatt auch vermehren können und somit Kolonieen oder schließlich einen Belag bilden; einzelnen weit voneinander getrennten Individuen kann doch wohl unmöglich eine Bedeutung bei der Selbsterwärmung des Tabaks beigemessen werden.

Behrens hat mir weiter vorgeworfen, daß ich den Beweis nicht geliefert hätte, daß „Bakterien auf Tabaksblättern von 25 Proz. Wassergehalt nicht zu wachsen vermögen“. Nun hatte ich aber den Beweis en gros vor mir, so daß jeder weitere Versuch lediglich eine Repetition en detail gewesen wäre. Uebrigens haben mich Versuche, welche ich nach meiner ersten Publikation in dieser Sache anstellte, belehrt, daß selbst ein beträchtlich höherer Wassergehalt (35 Proz. und darüber) auf Tabaksblättern keine Bakterienentwickelung gestattete, als ich diese in einem festverschlossenen Glase bei genügendem Luftgehalt und der Temperatur der fermentierenden Tabakshaufen (50—60° C) in einem Thermostaten hielt.

Nach meiner Ansicht bleibt nichts anderes übrig, als die Oxydationsvorgänge beim „Trocknen“ und „Fermentieren“ des Tabaks den in den Tabaksblättern vorhandenen oxydierenden Enzymen zuzuschreiben, worüber ich später noch weitere Mitteilungen machen werde. Behrens freilich bezweifelt die Existenz der Oxydasen überhaupt [1]), womit er allerdings wenig Zustimmung finden dürfte. Bei meinem Versuch, welcher eine wenn auch langsame Wirkung von Peroxydase auf Nikotin ergab, wirft Behrens ein, daß vielleicht Bakterien trotz des Thymolzusatzes nicht ausgeschlossen waren. Daß manche Bakterien durch Thymol bei gewöhnlicher Temperatur nicht wesentlich an ihren Lebensfunktionen beeinträchtigt werden, habe ich ebenfalls zu beobachten Gelegenheit gehabt, aber in meinem Versuch handelte es sich um volle Sättigung mit Thymol bei der Temperatur der fermentierenden Tabakshaufen, d. i. bei 50—60° C. In der That hatte auch die mikroskopische Prüfung die Abwesenheit von Bakterien ergeben. Es ist ja ferner eine bekannte Thatsache, daß Gifte bei höherer Temperatur intensiver wirken, oder richtiger ausgedrückt, daß lebende Zellen bei höherer Temperatur meist reaktionsfähiger und also auch empfänglicher für schädliche Einflüsse sind.

In Behrens' Besprechung meiner Abhandlung findet sich ferner der Satz: „Loew stellt sich vielmehr vor, daß die Oxydasen die Benzolderivate oxydieren, welche das Plasma nicht oder nur schwer anzugreifen vermag (vergl. aber die vorzügliche Ernährung der Schimmelpilze durch Chinasäure u. a.), während es seinerseits die den Oxydasen unzugänglichen Kohlehydrate und Fette im Atmungsprozesse oxydiert“. Was nun jenen Satz in Parenthese betrifft, so

---

1) Dieses Centralblatt. 1898. p. 742. Behrens erwähnt dort nebenbei auch, daß selbst altes Terpentinöl die Indophenolreaktion nicht giebt. Man kann aber bei Ueberschuß von α-Naphtol und nicht zu wenig Terpentinöl die Reaktion wohl beobachten, sie tritt allerdings nur langsam ein.

sei nur kurz hervorgehoben: 1) daß höhere Pflanzen und Tiere nicht alles verwenden können, was Schimmelpilzen zur Nahrung hinreicht, 2) daß die Schimmelpilze für gewöhnlich keine oder nur Spuren von mit Guaiac nachweisbaren Oxydasen bilden, somit hier eine Diskussion der Funktion von selbst wegfällt, und 3) daß trotz ihres Kohlenstoffringes die Chinasäure wegen ihres gesättigten Charakters und ihrer Hydroxylgruppen im physiologischen Wert der zur aliptatischen Reihe gehörigen Weinsäure viel näher steht, als der zur aromatischen Reihe gehörigen und im Ringsystem ihr chemisch näher stehenden Benzoësäure [1]).

Nun möchte noch die Frage aufgeworfen werden, wie es komme, daß das feine Aroma des Habanatabaks nicht überall auftrete, wo oxydierende Enzyme auf Nikotin wirken und dasselbe partiell oxydieren. Darauf wäre zu erwidern, daß sehr wahrscheinlich in trüber und regnerischer Saison im Tabak unangenehme Nebenprodukte erzeugt werden, welche das Aroma verdecken. So war der sonst vorzügliche Connecticut Tabak im regnerischen Sommer von 1897 von solch schlechter Qualität, daß der dafür erzielte Preis nicht einmal die Kosten für die angewandten Düngematerialien deckte. Ein dortiger Farmer erklärte mir: „the tobacco had a stink about it“.

Da in Deutschland die Sommer häufig sehr regnerisch sind, dürfte die Hoffnung, dort Tabak von Habanaqualität zu erzielen, sich wohl nur ausnahmsweise erfüllen. Am meisten dürften noch fortgesetzte Selektions- und Kreuzungsversuche versprechen.

2. Dezember 1899.

Nachdruck verboten.

Die Bedeutung der Milchsäurefermente für die Bildung von Eiweisszersetzungsprodukten in Emmenthalerkäsen,

nebst einigen Bemerkungen über die Reifungsvorgänge.

Von **Ed. v. Freudenreich** und **Orla Jensen.**

(Fortsetzung statt Schluß.)

Versuch 4b zeigt, daß die Milchsäurefermente ohne Mithilfe der natürlichen Milchenzyme im Käse das Caseïn löslich machen können. Daß die Versuche 5a und 5b in dieser Hinsicht weniger günstige Resultate gaben, rührt wohl in erster Linie davon her, daß, wie bereits erwähnt, Käse aus stark erwärmter Milch die Molken nur sehr schlecht abgeben und daher infolge der Impfung mit Milchsäurebakterien sehr sauer werden, wodurch in Hartkäsen der Peptonisierung des Caseïns ein Ende gemacht wird. In Käse 4b aber war es wahrscheinlich gelungen, durch besseres Ausrühren und höheres Nachwärmen die Molken besser zu vertreiben. In den Käsen dagegen, die nicht mit Milchsäurefermenten geimpft worden waren, machte sich der Einfluß

1) Die Beziehungen zwischen chemischer Konstitution und Ernährungsfähigkeit der Substanzen für Pilze habe ich ausführlich erörtert in meiner Schrift: Die chemische Energie der lebenden Zellen, Kap. 6.

der Molken nicht in gleicher Weise geltend, denn diese wurden nicht so sauer, was sich daraus ergiebt, daß dieselben und selbst derjenige, in welchem das Bacterium lactis acidi nach und nach zum Vorschein kam, zur Zeit der Untersuchung, also 2 Monate nach ihrer Herstellung, noch Milchzucker enthielten, während letzterer in Käsen, in denen lebensfähige Milchsäurefermente gegenwärtig sind, schon nach 2 Tagen vollständig in Milchsäure umgebildet ist.

Auch diese Käse aus stark erhitzter Milch bestätigen unsere früheren Ergebnisse, daß nämlich die Milchsäurefermente die Bildung der Hauptmenge der Eiweißzersetzungsprodukte im Käse verursachen.

Durch diese Versuche dürften folgende drei Punkte festgestellt worden sein:

1) Die verflüssigenden Bakterien, wie Tyrothrix tenuis und Bacillus 1, spielen für das Löslichwerden des Caseïns in normalen Emmenthalerkäsen, welche immer große Mengen von Milchsäurefermenten beherbergen, absolut keine Rolle, weil sie von den letzteren gleich überwuchert und in ihrer Entwickelung gehemmt werden.

2) In Käsen, in welchen durch Pasteurisierung der Milch die Hauptmenge der Milchsäurefermente abgetötet oder abgeschwächt worden ist, scheinen sich dagegen, wenigstens in der Anfangsperiode, verflüssigende Bakterien der Gattung Bacillus 1 entwickeln und einen Teil des Caseïns löslich machen zu können. In solchen Käsen scheinen ebenfalls die von Babcock und Russell entdeckten natürlichen Milchenzyme eine Rolle zu spielen.

3) Die Michsäurefermente können auch ohne Hilfe der natürlichen Milchenzyme das Caseïn im Käse löslich machen. Was wir dagegen vorläufig nicht feststellen können, ist, wie viel bei dem Löslichwerden des Caseïns im normalen Käse der Wirkung der Milchsäurefermente und wie viel der Wirkung der natürlichen Milchenzyme zuzuschreiben ist.

Wenn man ferner fragt, warum gerade die nicht mit Milchsäurefermenten geimpften Käse aus pasteurisierter Milch am meisten löslichen Stickstoff enthalten, so hat man die Erklärung in dem Umstande zu suchen, daß solche Käse nicht so sauer werden wie Käse, in welchen die Milchsäurefermente sich stark entwickeln, und daß sowohl die Milchsäurefermente (nach den Befunden des einen von uns) als auch die natürlichen Milchenzyme (nach den Angaben von Babcock und Russell) in ihrer peptonisierenden Wirkung durch Säure abgeschwächt werden. Auch mögen die in den Kontrollkäsen sich öfters entwickelnden verflüssigenden Bakterien an der vermehrten Löslichmachung des Caseïns sich gleichfalls beteiligen.

II. Käse aus pasteurisierter Milch im Großbetriebe hergestellt.

Wie bereits erwähnt, wollten wir noch in einer ferneren Versuchsserie die Käse von annähernd normaler Größe, und zwar in einer Käserei herstellen lassen, damit die Reifung auch unter ganz normalen Bedingungen vor sich gehen könnte. Auch hier pasteurisierten wir die Milch wie bei den früheren Versuchen, was uns gleichzeitig in den Stand setzte, die Frage zu untersuchen, ob die Pasteuri-

sierung der Milch sich für die Fabrikation von Emmenthalerkäsen in der Praxis überhaupt eignen könnte. Wie man sehen wird, lösen unsere Versuche diese Frage in negativem Sinne.

Die Milch wurde bei unseren Versuchen im Käsekessel auf 68°—70° 20 Minuten lang erhitzt, dann möglichst rasch auf ca. 35° abgekühlt, indem sie in große metallene Eimer abgegossen wurde, die man in kaltes Wasser stellte. Als Labflüssigkeit diente bei den Versuchen, bei welchen Reinkulturen von Bakterien zur Anwendung kamen, eine Auflösung von Hansen'schen Labtabletten in Wasser. Es wurden im ganzen 7 Käse hergestellt, von denen einer als Kontrolle ungeimpft blieb unter Anwendung von Kunstlab; zwei wurden mit Bac. α, Bac. ε und Bact. lactis acidi geimpft, einer mit Tyr. tenuis, einer mit Tyr. tenuis und Bac. ε, Bac. α und Bact. lactis acidi; bei einem sechsten Käse endlich, der nicht mit Reinkulturen geimpft wurde, brauchte man Naturlab. Zum Vergleiche wurde ein siebenter Käse aus nicht erhitzter Milch unter Anwendung von Naturlab hergestellt.

Folgende Tabelle giebt über die Fabrikation dieser Käse (p. 115) genaueren Aufschluß.

Die Verschiedenheiten in der Käseausbeute, welche sich aus dieser Tabelle ergeben, rühren natürlicherweise vor allem von dem verschiedenen Fettgehalte der verwendeten Milch her. Leider ist dieser nicht bestimmt worden, doch bei Käsen, die auf die gleiche Weise hergestellt worden sind, kann man ihn annähernd bestimmen, wenn man, wie es in Tabelle F geschehen ist, das Verhältnis zwischen stickstoffhaltigen Substanzen und Fett berechnet. Vergleichen wir die Käseausbeuten, welche wir aus pasteurisierter Milch bekommen haben, mit den Zahlen in der Tabelle F, so sehen wir meistens, daß je größer die Fettmenge für 100 Teile stickstoffhaltiger Substanzen ist, desto größer auch die Ausbeute ist. Die gewöhnliche Ausbeute bei Emmenthalerkäsen aus Vollmilch beträgt ca. 10 Proz., und es ist dieses auch der Fall für unseren Käse 7 aus nicht pasteurisierter Milch. Mit Ausnahme des relativ ziemlich mageren Käses 6 haben wir für alle die anderen aus pasteurisierter Milch hergestellten Käse eine 10 Prozent übersteigende Ausbeute. Auch Klein und Kirsten haben in der bereits citierten Arbeit der Backsteinkäse die Beobachtung gemacht, daß das Pasteurisieren der Milch die Ausbeute vermehrt. Dieses rührt wohl größtenteils von einem anfänglichen höheren Wassergehalte solcher Käse her, doch ist auch eine größere Kaseïnausbeute nicht ausgeschlossen, da wahrscheinlich durch das Pasteurisieren ein Teil der Eiweißstoffe der Molken koaguliert wird und daher in den Käse übergeht. Dafür spricht erstens der Umstand, daß bei den Versuchen mit pasteurisierter Milch die Molken stets etwas weißlich waren und zweitens die Thatsache, daß, wie aus den Tabellen F und E sich ergiebt, im normalen Käse 7 weniger stickstoffhaltige Substanzen sowohl auf einen Teil Fett als auf einen Teil Asche entfallen, als dieses in den aus pasteurisierter Milch hergestellten Käsen der Fall ist. (Wenn dieses Verhältnis nur für das Fett und nicht auch für die Asche zutreffen würde, so hätte es bloß zu bedeuten, daß Käse 7 aus fettreicherer Milch hergestellt worden war.)

No. des Versuchs	Bearbeitete Milch	Lab und eingeimpfte Bakterien	Dicken		Vorkäsen	Setzen	Wärmen		Ausrühren	Gewicht der Käse ab der Presse	Ausbeute
			Temperat.	Minuten	Minuten	Minuten	Temperat.	Minuten	Minuten		frisch
1898	kg		Grad				Grad			kg	Proz.
1 (21. Okt.)	150	Hansen'sche Labtabletten keine Bakterien	35	32	30	10	53	20	35	17	11,3
2 (1. Nov.)	293	Labtabletten mit Tyr. tenuis-Kultur (1 l Bouillonkultur)	35	20	20	10	55	15	20	37	12,7
3 (27. Okt.)	204	Labtabletten mit Kultur von Tyr. tenuis (1 l) und α, ε und Bact. lact. acidi ($2^1/_2$ l)	34	25	25	10	55	20	30	22	10,8
4 (25. Okt.)	264	Labtabletten mit Kulturen von α (1 l), ε (1 l) und Bact. lactis acidi ($^1/_4$ l)	35	20	30	10	54	15	30	31	11,7
5 (31. Okt.)	217	Labtabletten mit Kulturen von α ($^1/_6$ l), ε (2 l) und Bact. lactis acidi ($^1/_6$ l)	35	20	20	10	55	15	20	26	12,0
6 (22. Okt.)	363	Naturlab	35,5	35	30	10	55	25	40	36	9,9
7 (23. Okt.)	420	Naturlab. Nicht pasteurisierte Milch	35	25	30	10	54,5	25	30	42	10,0

Diese 7 Käse wurden dreimal, nach 2, 3 und 4 Monaten, bakteriologisch untersucht, wobei gleichzeitig Aussehen, Lochung, Geschmack u. s. w. genau notiert wurden, bei welchem Anlaß uns die Erfahrungen des Herrn Dr. Wüthrich, Direktor der Molkereischule Rütti, und des Oberkäsers Herrn Held sehr zu statten kamen, und zweimal, nämlich nach 2 und 4 Monaten, einer vollständigen chemischen Analyse unterworfen. Die erste Untersuchung fand gerade am Ende der Hauptgärung statt; von diesem Zeitpunkte an wurden sie in einem kühleren Raume aufbewahrt und machten deshalb, wie die chemische Analyse zeigen wird, nur noch langsam weitere Fortschritte. Der Geschmack verbesserte sich jedoch stetig von der ersten bis zu der letzten Untersuchung, auch schienen die Käse trotz des Wasserverlustes weniger trocken zu werden. Eine Ausnahme bildete bloß der mit Tyr. tenuis geimpfte Käse, dessen Geschmack immer schlechter wurde.

Als ein Hauptergebnis dieser Versuche kann man anführen, daß, während der als Vergleichsobjekt dienende Käse 7 aus nicht pasteurisierter Milch in jeder Beziehung normal war, also auch eine regelmäßige Lochung und einen schönen gelblichen und weichen Teig hatte, dieser bei allen aus pasteurisierter Milch hergestellten Käsen weißlich und etwas bröcklig war, mit mangelhafter und unregelmäßiger oder auch selbst ganz ausbleibender Lochung. Es scheint also bereits die Pasteurisiertemperatur das Caseïn so zu verändern, daß mit Bezug auf Konsistenz des Teiges und Lochung ein normaler Hartkäse aus pasteurisierter Milch nicht hergestellt werden kann. Zu einer ähnlichen Schlußfolgerung sind in einer vor kurzem erschienenen Arbeit F. W. J. Boekhout und J. J. Ott de Vries bezüglich des Edamerkäses, auch eines Hartkäses, gelangt[1]).

Sollten daher einmal, was uns als wahrscheinlich erscheint, Reinkulturen in der Käsefabrikation, wie bei der Butterfabrikation, Verwendung finden, so wird man nicht, wie in letzterem Falle, die Milch vorher pasteurisieren dürfen[2]). Man wird deshalb die Fernhaltung schädlicher Bakterien auf andere Weise erstreben müssen, z. B. durch peinlichste Sauberkeit beim Melken, Anwendung verbesserter Melkmaschinen und dergleichen mehr.

Was Reifung anlangt, so stand auf der untersten Stufe Käse 1, der nicht geimpft worden war. Die bakteriologische Untersuchung ergab zwar die Gegenwart einiger Milchsäurefermente, die zur Zeit der zweiten Untersuchung zahlreicher waren als bei der ersten; es scheint also bei diesem Käse keine starke Bakterienentwickelung während der Hauptgärung stattgefunden zu haben, wie es sonst der Fall ist, was die mangelhafte Reifung erklären würde. Immerhin dürften die mit der Zeit zur Entwickelung gekommenen Bakterien nicht ganz wirkungslos geblieben sein, denn bis zur dritten Untersuchung wurde der Geschmack dem eines gereiften Käses ähnlicher; immerhin stand dieser Käse bedeutend hinter den übrigen zurück.

---

1) Dies. Centralbl. II. Abt. Bd. V. p. 304.

2) Freilich wäre der Einfluß einer kürzeren Pasteurisierungsdauer bei höherer Temperatur, etwa 85°, noch festzustellen.

Daß überhaupt Bakterien in diesem Käse sich entwickelten, darf uns nicht Wunder nehmen. Einmal wissen wir, daß die Pasteurisierung keine absolute Keimfreiheit der Milch garantiert, und dann ist eine Infektion der Milch während des Verkäsens in einer Käserei nicht zu vermeiden, wie jeder sich leicht denken kann, der sich die dabei stattfindenden Manipulationen vergegenwärtigt. Immerhin scheint es, wie die übrigen Versuche zeigen, einen großen Unterschied zu machen, ob die Infektion eine spärliche ist wie hier, oder ob von Anfang an große Zahlen von Bakterien eingeimpft werden.

Einen ausgesprochen schlechten Geschmack hat Käse 2, der mit Tyrothrix tenuis allein geimpft worden war. Bei der dritten Untersuchung war er deutlich bitter, dagegen fiel bei der ersten Untersuchung seine etwas weiche Konsistenz auf, was vielleicht der in den den Tyrothrix-Kulturen enthaltenen Casease zuzuschreiben ist. Tyrothrix tenuis scheint sich nicht vermehrt zu haben, da die infizierte Molke nach Herstellung des Käses 16000 Tyrothrix-Bacillen enthielt, also die frische Käsemasse nach unseren früheren Untersuchungen (vgl. dies. Centralbl. II. Abt. Bd. III. p. 550) jedenfalls bedeutend mehr, unser Käse aber am Ende der Hauptgärung nicht mehr als 66000 Tyrothrix per Gramm aufwies. Bei der zweiten Untersuchung fiel diese letztere Zahl auf 23750, bei der dritten Untersuchung auf 10325 herab. Abgesehen von dem schlechten Geschmack war doch Reifung vorhanden, was jedenfalls mit dem auch in diesem Käse konstatierten allmählichen Auftreten von Milchsäurefermenten (α und ε ähnlicher Bacillus) zusammenhängt. Jedenfalls aber geht aus diesem Versuche hervor, daß die Tyrothrix-Bacillen die Qualität des Käses nur verschlechtern.

Auf ziemlich gleicher Stufe untereinander stehen die mit Milchsäurefermenten geimpften Käse 4 und 5 sowie der gleichzeitig mit diesen und Tyrothrix tenuis geimpfte Käse 3. In diesem war die Abnahme des letzteren Mikroorganismus von einer Untersuchung zur anderen noch markierter; sie fiel von 125000 per Gramm auf 12500 und 7890. Die eingeimpften Milchsäurefermente dagegen scheinen sich, nach dem Resultate der angelegten Platten, gut entwickelt zu haben. Man zählte bei der ersten Untersuchung mehrere Millionen derselben per Gramm, Zahlen, die dann, wie das gewöhnlich der Fall nach vollendeter Hauptgärung ist, mit der Zeit eine allmähliche Abnahme zeigten. Beigefügt werde noch, daß, außer in den mit Tyrothrix tenuis geimpften Käsen, verflüssigende Bacillen gar nicht oder nur höchst selten und spärlich gefunden wurden. Auch streng anaërobe Bakterienarten, wie etwa Weigmann's Paraplectrum foetidum, wurden vermißt.

Was nun den Geschmack dieser mit Milchsäurefermenten geimpften Käse anlangt, so waren sie alle deutlich gereift, frei von jedem unangenehmen Beigeschmack, jedoch waren sie nicht vergleichbar mit dem normalen Käse 7. Ueber die Ursachen dieser Erscheinung kommen wir bei Besprechung der Resultate der chemischen Analyse noch zurück.

Besser war noch der mit Naturlab hergestellte Käse 6. Von allen stand dieser dem normalen Käse am nächsten, ohne jedoch

dessen Vollkommenheit zu erreichen. An Bakterien ließen sich in ihm nur Milchsäurefermente finden und zwar besonders α, γ, ε und δ. Auch im normalen Käse gaben die Platten nur Milchsäurefermente, α, ε, δ und Bact. lact. acidi.

Wir gehen nun über zu den Resultaten der chemischen Untersuchung dieser 7 Käse.

Die zwei ersten Tabellen A I und A II[1]) enthalten die Resultate der nach 2 und 4 Monaten vorgenommenen chemischen Untersuchung der Käsemasse in frischem Zustande.

Tabelle A I.

	1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.
Wasser	35,15	39,31	37,41	38,82	36,91	41,08	35,61
Fett	32,04	30,99	29,70	29,44	31,38	27,05	33,61
N-haltige Stoffe	26,32	24,84	27,00	26,43	25,88	26,29	26,26
NaCl-freie Asche	2,76	2,72	2,72	2,74	2,77	2,75	2,92
NaCl	3,73	2,14	3,17	2,57	3,06	2,83	1,60
Gesamtstickstoff	3,89	3,70	3,93	3,91	3,88	3,80	3,80

Tabelle A II.

	1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.
Wasser	34,74	37,50	36,03	37,81	36,43	39,08	34,26
Fett	32,16	31,68	30,05	29,96	31,83	27,64	33,64
N-haltige Stoffe	26,36	25,45	27,52	26,35	25,97	27,17	26,40
NaCl-freie Asche	2,86	2,93	2,88	2,86	2,80	2,95	3,19
NaCl	3,88	2,44	3,52	3,02	2,97	3,16	2,51
Gesamtstickstoff	3,88	3,75	3,97	3,81	3,79	3,85	2,78

Hieraus sieht man, daß in der Zeit zwischen der ersten und zweiten Untersuchung die Wasserabnahme und die Kochsalzzunahme eine ziemlich ungleiche ist. Nur bei Käse 5, in welchem die Wasserabnahme bloß 0,48 Proz. beträgt, ist die Kochsalzmenge unverändert geblieben. (Der Unterschied von 0,09 Proz. zwischen den beiden Untersuchungen liegt innerhalb der Grenzen der Versuchsfehler.)

In den folgenden Tabellen B I, B IIb und B IIa ist ähnlich wie bei den kleineren Versuchskäsen der gesamte lösliche Stickstoff und der Amidstickstoff in Prozenten des Gesamtstickstoffes angegeben. Außerdem ist der Ammoniakstickstoff durch Destillation eines Teiles des Käseextraktes, ca. 3 g Käsepulver entsprechend, mit $BaCO^3$ ermittelt worden. Baryumkarbonat haben wir nach dem Vorgange von Stutzer[2]) statt MgO verwendet, weil letzteres zu hohe Resultate giebt. Mit demselben findet man auch in frischer Milch Ammoniakmengen, die kaum wahrscheinlich sind. So haben wir bei den Käsen 3 I, 4 I, 7 I und 8[3]) durch Destillation mit MgO 0,70, 0,89, 1,73 und

1) Die römischen Ziffern geben die Nummer der Untersuchung an (I. nach 2 Monaten, II. nach 4 Monaten), die arabischen Ziffern 1—7 beziehen sich auf die Nummern der verschiedenen Käse.

2) Zeitschr. f. analyt. Chemie. 1896. p. 497.

3) Käse 8 ist ein alter, sehr guter Emmenthalerkäse, welcher bloß zum Vergleiche mit den jüngeren Käsen dieser Versuchsserie herangezogen wurde.

Tabelle B I.

Von 100 Teilen des gesamt. Stickstoffes sind in Lösg. übergegangen:	1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.
Insgesamt	22,90	21,67	18,24	19,48	16,56	21,35	29,67
In Form von Proteïnstoffen	20,28	16,89	13,38	13,23	11,47	12,49	17,74
In Form von Eiweißzersetzungsprodukten (Amidstickstoff)	2,51	4,10	4,63	5,91	4,86	8,57	11,18
In Form von Ammoniak	0,11	0,68	0,23	0,34	0,23	0,29	0,75
Amidstickstoff in Proz. des gesamten löslichen Stickstoffes	10,98	18,79	25,38	30,34	29,36	40,13	37,67

Tabelle B IIa.

Von 100 Teilen des gesamten Stickstoffes sind in Lösung übergegangen:	1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.
Insgesamt	25,63	21,45	21,25	21,39	19,95	23,72	30,92	33,15
In Form von Proteïnstoffen	22,14	16,03	13,99	14,46	13,56	14,02	17,22	13,43
In Form v. Eiweißzersetzgs.-produkten (Amidstickstoff)	3,05	4,70	6,29	6,23	5,63	8,83	12,43	17,35
In Form von Ammoniak	0,44	0,72	0,97	0,70	0,76	0,87	1,27	2,37
Amidstickstoff in Proz. d. gesamten löslich. Stickstoffes	11,89	21,94	29,62	29,11	28,23	37,22	40,00	52,33

Tabelle B IIb [1]).

Von 100 Teilen des gesamten Stickstoffes sind in Lösung übergegangen:	1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.
Insgesamt	24,91	21,64	22,05	20,28	19,03	23,59	33,20	34,87
In Form v. Eiweißzersetzgs.-produkten (Amidstickstoff)	2,83	4,46	5,94	6,24	5,37	9,21	12,52	17,29

3,66 Stickstoff als Ammoniakstickstoff bekommen. Auch Beneke und Schulze geben an [2]), daß MgO für die Bestimmung des Ammoniakstickstoffes im Käse sich nicht eigne. Der Stickstoff der löslichen Proteïnstoffe ist als Differenz zwischen dem gesamten löslichen Stickstoff einerseits und dem Amidstickstoff und Ammoniakstickstoff andererseits berechnet. (Schluß folgt.)

Referate.

Saccardo, P. A., Sylloge fungorum omnium hucusque cognitorum. Supplementum universale IV; auctoribus **P. A. Saccardo** et **P. Sydow.** Padua 1899. Preis 83 fr.

Nachdem die beiden Registerbände erschienen sind, ist kurz darauf abermals ein Band des großen Sammelwerkes gefolgt, der die Diagnosen der seit Erscheinen des Band XI veröffentlichten Pilze

1) In dieser Versuchsserie wurde nur bei Zimmertemperatur extrahiert.
2) Landw. Jahrbücher. Bd, XXI. p. 317—382.

enthält. Ueber den Wert solcher Zusammenstellung sind die Mykologen längst einig, viele benutzen es, aber nur wenige verstehen es kritisch zu gebrauchen. Die Diagnosen, Citate u. s. w. sind in der allbekannten Form gegeben, nur sind die Litteraturangaben diesmal viel genauer und zuverlässiger als in den früheren Bänden. Am Schlusse des Bandes ist wieder ein Generalregister aller Gattungen gegeben, leider auch nicht viel zuverlässiger als das von Bd. XI.

Im Anfange des Bandes ist das Sporensystem Saccardo's in extenso gegeben mit allen Ergänzungen, welche aus neueren Forschungen unabweisbar geworden sind. Hier taucht auch der Name Deuteromycetes für Fungi imperfecti auf, ein Name, der ebensowenig geschmackvoll ist wie jener und sich hoffentlich nicht einbürgern wird. Von besonderer Bedeutung ist eine Gattungsübersicht über das gesamte System. Saccardo hat bei den einzelnen Familien die Gattungen mit den verschiedenen Sporenformen einander gegenübergestellt und dadurch Parallelreihen gebildet, welche Gattungen enthalten, die sich nur durch die Form der Sporen unterscheiden, aber sonst in der Organisation sich ähneln. Diese vom Ref. bereits früher genügend kritisierte Methode der Systematik läßt leider das Sporensystem immer mehr zu einer Schablone herabsinken. Daß sich in den Sporen oft wertvolle Hinweise auf Verwandtschaft von Gattungen finden, darf nicht geleugnet werden, aber andererseits giebt uns die Verschiedenheit der Sporenform bei sonst gleicher Organisation noch lange nicht das Recht, Gattungen abzutrennen. Wenn dies heutzutage geschieht, so werden damit Konsequenzen des Sporenschemas gezogen, durch welche der weitere Fortschritt in der Pilzsystematik angebahnt werden wird. Da Saccardo die in den Parallelbreiten auftretenden Lücken mit Nummern bezeichnet, so ist vorläufig für die Pilzsystematiker noch auf lange Zeit für Arbeit gesorgt, damit diese Lücken allmählich ausgefüllt werden.

Lindau (Berlin).

Zacharias, O., Der Moschuspilz (Cucurbitaria aquaeductum) als Planktonmitglied in Seen. (Biol. Centralbl. 1899. p. 285.)

In den Seen bei Plön fand sich häufig im Plankton ein Pilz, der vermöge seines eigenartigen Baues für das Schweben vorzüglich angepaßt ist. Von einem etwas dickeren Mittelstück gehen an beiden Enden je 2 starre divergierende Fäden aus, die septiert sind. Der mittlere Teil ist 50—60 μ lang, die Fäden 400—500 μ. Die Dicke beträgt etwa 7—8 μ. Diesen Organismus bestimmte Ludwig als Fusarium aquaeductum, den bekannten Moschuspilz. Für die Richtigkeit der Identifizierung spricht die Auffindung von sichelförmigen Konidien.

Der Moschuspilz ist der erste im Plankton nachgewiesene Pilz.

Lindau (Berlin).

Mc Donnell, Milton Earle, Ueber Milchsäurebakterien. [Inaug.-Diss.] 8°. 58 p. Kiel 1899.

Verf. prüft zunächst verschiedene Nährböden für das Wachstum

der Milchsäurebakterien und zeigt, daß letztere ebensogut in festem als in flüssigem Nährboden wachsen können und daß keine besonderen Salze oder Formen von Stickstoff dazu notwendig sind; die Erscheinung, daß die Organismen in gewöhnlichen Nährböden, welche Milchzucker enthalten, nicht gut wachsen, dürfte auf den unheilvollen Einfluß der gebildeten Milchsäure zurückzuführen sein.

Weiterhin geht Mc Donnell auf den Einfluß verschiedener Stickstoffverbindungen als Nährstoff für das Bacterium lactis acidi ein, betrachtet verschiedene Milchsäuregärung verursachende Organismen, giebt allgemeine Betrachtungen über die Morphologie der Milchsäurebakterien und die physiologischen Eigenschaften der Milchsäurefermente, zeigt die Wirkung einer Wasserstoffatmosphäre auf die Virulenz, teilt die Optimum-, Maximum- und Minimumtemperatur der verschiedenen Milchsäurebakterien mit, wobei sich ergiebt, daß derselbe Organismus bei verschiedenen Temperaturen einen verschiedenen Grad von Säuerung bedingt und geht zu einer Klassifikation der Milchsäurebakterien über unter Beifügung der charakteristischen Merkmale.

1) Bact. lact. acidi	aromat.	Temperaturoptimum	27—35° C
2) „ „ „	maltigenum	„	annähernd 32° C
3) „ „ „	purum	„	30—35° C
4) „ „ „	acerbum	„	30—36° C
5) Staphylococcus lactis acidi		„	etwa 40° C

Was die Fortpflanzung von Milchsäurebaketrien-Reinkulturen im Meiereibetrieb anlangt, so ergiebt sich aus den Beobachtungen des Verf.'s die Schlußfolgerung, daß eine Reinkultur möglichst bei der Optimumtemperatur des Organismus geprüft werden sollte oder daß ein für die Rahmreifung bestimmter Organismus eine Optimumtemperatur haben sollte, welche den Verhältnissen, unter welchen die Kultur verwendet werden soll, entspricht. Die Wichtigkeit dieser Forderung kann nicht lebhaft genug betont werden.

Auf 3 Tafeln finden sich 17 Figuren, mit 3 Ausnahmen auf das 960-fache ihres Durchmessers vergrößert, teils mit Methylenblau, teils mit Fuchsin gefärbt. E. Roth (Halle a. S.).

Wagner, G., Beitrag zur Kenntnis der Pflanzenparasiten, IV. (Zeitschr. f. Pflanzenkrankh. 1899. p. 80.)

Verf. teilt seine Beobachtungen über den Hallimasch (Agaricus melleus) mit. Er konstatierte ihn bei 27 Laub- und 5 Nadelholzbaumarten als Ursache der Erkrankung und des Absterbens. Von den speziellen Beobachtungen ist besonders eine interessant, wie eine Kiefer nach einer Verwundung weißfaul wurde. Das Mycel verbreitete sich nach ihrer Fällung vom Stumpfe aus unterirdisch zu den Wurzeln eines Apfelbaumes, der bald dem Angriffe des Pilzes erlag. Bemerkenswert sind eine Reihe von Impfversuchen, die Verf. mit dem Hallimasch bei verschiedenen Bäumen vornahm. Positiven Erfolg erhielt er bei der Platane, Tanne, Fichte, Eiche, Apfelbaum und Acer platanoides. Indessen geht auch aus seinen Versuchen hervor, daß das Mycel nur in Wunden eindringt und nur ruhende Gewebe ergreift, während lebhaft fortwachsende widerstandsfähig sind.

Für die Uebertragung des Mycels erwähnt Verf. einen charakteristischen Fall. Er konstatierte bei einem Weinstock den Hallimasch, wies nach, daß die Infektion dadurch erfolgt sei, daß Erde von einem Holzplatz, wo erwiesenermaßen das Mycel lebte, zur Düngung des Weinstockes benutzt worden war. Ferner teilt er noch einen Fall mit, bei dem er die Infektion durch Sporen für wahrscheinlich hält. Ein Birnbaum stürzte so gegen einen Apfelbaum, daß letzterer $1^1/_2$ m über dem Erdboden eine große Wunde erhielt, die nicht sofort verschmiert wurde. Der Baum kränkelte und starb an Weißfäule, obwohl Wurzelhals und Wurzeln gesund waren.

Auch Agaricus mucidus scheint für die Buchen, an denen er lebt, nicht ungefährlich zu sein. Ebenso A. ostreatus für Pappeln und Weiden. Verf. hält letzteren Pilz und A. salignus für identisch, da die Uebertragung des auf Salix wachsenden Pilzes auf Fagus und von da wieder auf Populus gelang.

Lindau (Berlin).

Perraud, J., Sur les formes de conservation et de reproduction du Black-Rot. (Compt. rend. de l'acad. de sciences. T. CXXVIII. 1899. 1. Sem. No. 20. p. 1249 f.)

Die Frage nach der Form, in welcher der die Black-Rot-Krankheit verursachende Pilz, Guigniardia Bidwellii, den Winter überdauert, hat für die Bekämpfung dieses Uebels eine große praktische Bedeutung. Verf. gelangt durch seine Untersuchungen zu der Annahme, daß die Uebertragung des Black-Rot von einem Jahre ins andere durch im Herbste aus Pykniden ausgetretene Stylosporen, ferner durch unversehrt gebliebene Pykniden, endlich durch Sklerotien und Perithecien geschieht. Es konnte im Herbst und im Winter nachgewiesen werden, daß die frühere Annahme, nach welcher die ausgetretenen Stylosporen bald ihre Keimfähigkeit verlieren, nicht zutrifft. Diese Sporen sind auf den verschiedensten Teilen der Reben vorhanden und tragen zu den ersten Angriffen im Frühjahr bei. Es empfiehlt sich daher, die erste Behandlung auf alle oberirdischen Teile des Weinstocks auszudehnen.

Auch die Pykniden, besonders die an kranken Trieben befindlichen, können ihre Stylosporen unversehrt während des ganzen Winters erhalten. Es ist daher gefährlich, das beim Schneiden erhaltene Holz im Weinberg zu belassen. Man findet während des Winters an den befallenen Weinbeeren auch mit Spermatien gefüllte Spermogonien, deren Rolle indessen noch unbekannt ist.

Die Perithecien tragen am meisten zum Wiedererscheinen des Black-Rot im Frühjahr bei. Sie entstehen auf Kosten eines sklerotienartigen Gewebes, welches sich im Innern der vorher vorhanden gewesenen Pykniden entwickelt hat. Es ist sehr selten, daß Sklerotien sich außerhalb der leeren Pykniden bilden. Die Differenzierung des Sklerotiengewebes beginnt Anfang November und vollzieht sich während des ganzen Winters. Im Februar erscheinen die erten Asci und die Sporen bilden sich im April. Sie können demnach auch zu den ersten Angriffen im April beitragen. Die Perithecien erscheinen nur an den Weinbeeren, nicht an den abgefallenen Blättern oder den

verholzten Teilen der Reben. Das Eingraben der befallenen Beeren im Herbste kann nicht als ein Mittel zur Vernichtung des Parasiten angesehen werden. Moritz (Berlin).

Wortmann, Julius, Ueber das Entstehen von Rostflecken auf Traubenbeeren. (Mitteil. über Weinbau und Kellerwirtschaft. 1899. No. 9. p. 129—133 und No. 10. p. 145—148.)

Verf. unterscheidet dreierlei Arten von Rostflecken an den Traubenbeeren. Als Hitztodflecken bezeichnet er solche gebräunte Stellen der Beeren, welche infolge der Abtötung der Epidermis durch zu starke Erwärmung durch Besonnung hervorgerufen werden. Die eigentlichen Rostflecken dagegen entstehen dadurch, daß sich die Beere durch Bildung einer Korkhaut vor zu starker Bestrahlung durch die Sonne zu schützen sucht. Diese Art von Rostflecken sind daher nicht als Krankheit, sondern als ein wirksames Abwehrmittel der Beeren anzusehen. Endlich entstehen auch braune Korkflecken an solchen Beeren, welche zum Schutze gegen Oidium geschwefelt worden waren und auf welchen das Schwefelpulver längere Zeit aufgelegen hat. Moritz (Berlin).

Trabut, Une nouvelle cochenille menaçant les orangers et autres plantes à feuilles persistantes (Aspidiotus ficus). (Rev. de viticult. T. XII. 1899. No. 302. p. 384 ff.)

Aspidiotus ficus oder Chrysomphalus ficus ist schon seit langer Zeit in Florida als ein bösartiger Schädling der Orangenbäume bekannt. Diese Schildlaus kann eine große Anzahl von Pflanzen aus den verschiedensten Familien befallen. Sie wurde in der alten Welt zum erstenmal auf Ceylon im Jahre 1896 durch Green beobachtet. Nachher fand sie A. Berlese in einem Treibhause in Florenz. In Algier ist das Auftreten dieses Parasiten erst 1899 bekannt geworden, obschon es wahrscheinlich ist, daß er bereits einige Jahre vorher dorthin eingeführt worden ist. — Einige der Abhandlung beigegebene Abbildungen veranschaulichen die Gestalt dieser Schildlaus und das Auftreten derselben an den Früchten und den Blättern der Orangenbäume. Moritz (Berlin).

Vogler, Insekten auf Polyporus. (Illustr. Zeitschr. f. Entomol. Bd. IV. 1899. No. 22. p. 345.)

Verf. beschreibt Pilzgallen auf einem Polyporus (P. fomentarius?), die durch ein Insekt verursacht werden. Die in den Gallen vorgefundenen Puppen, wie die Gallen selbst, werden abgebildet. Ludwig (Greiz).

v. Ihering, H., Die Anlage neuer Kolonieen und Pilzgärten bei Atta sexdens. (Zool. Anz. 1898. p. 238—245.)

Verf. beobachtete die erste Anlage der Kolonieen und Pilzgärten dieser Blattschneiderameise. Das Weibchen gräbt, nachdem es sich mittels der Beine der Flügel entledigt hat, an einer von Pflanzenwuchs freien Stelle eine senkrechte Höhlung von ca. 12—15 mm Durchmesser und 20—40 cm Länge in die Erde, die in eine seitliche Kammer von

6 cm Durchmesser mündet. Der obere Teil wird mit den aus dem Schacht beförderten Erdkugeln geschlossen. 1—2 Tage danach trifft man beim Oeffnen das Weibchen wie erschöpft in der Kammer. Einige weitere Tage darauf legt es 20—30 Eier. Neben ihnen bemerkt man einen Haufen lockerer weißer Masse, die erste Anlage des Pilzgartens, der, rasch wachsend, bald 2 cm Durchmesser erreicht und nun bald mit der Aussprossung der Möller'schen „Kohlrabihäufchen" beginnt. Die Eier bringt das Weibchen erst nachträglich in den Pilzgarten, auf dem sich die Larven dann zeigen, die zu ihrer vollen Entwickelung 2—3 Monate brauchen. Dann erst beginnt die Eintragung von Blättern und die weitere Ausgestaltung des Pilzgartens in der von Möller geschilderten Weise. Den Keim des neuen Pilzgartens bringt das Weibchen im Munde mit. Verf. fand, daß jedes befruchtete, dem alten Nest entflogene Weibchen von Atta sexdens am hintersten Teil der Mundhöhle eine 0,6 mm im Durchmesser haltende Kugel birgt, die aus dem Mycel des Pilzes der Ameisengärten Rhozites gongylophora besteht. Bei Wassersnot etc. sind die Bewohner des Ameisennestes vor allem bedacht, auch Teile des Pilzgartens zu retten. Ludwig (Greiz).

Untersuchungsmethoden, Instrumente etc.

Wedding, Der „Radiator", eine wichtige Neuerung auf dem Gebiete der Butterbereitung. (Gesundheit. 1899. No. 17.)

Verf. empfiehlt in sehr warmen Worten einen neuen in Schweden erfundenen Apparat zur Butterbereitung, welchen er mehrfach in Thätigkeit gesehen hat und vermöge dessen es möglich ist, Butter in kürzester Zeit, sofort nach Trennung des Rahmes von der Milch, in derselben Maschine herzustellen. Der Radiator pasteurisiert die frische Milch zunächst bis zu dem Grade, daß die Abtötung von Tuberkelbacillen und von anderen schädlichen Mikroorganismen bewirkt wird; die so behandelte Milch wird dann wieder auf Blutwärme abgekühlt und passiert einen Centrifugierapparat. Die so gewonnene Sahne wird schließlich in zwei Ströme, auf eine ohne Zeichnung nicht zu veranschaulichende Weise, getrennt, wovon der eine durch eine dünne Röhre mit wenigen ganz engen Oeffnungen am Ausflußende getrieben und mit enormer Gewalt gegen die entgegenströmende andere Hälfte der Sahne geschleudert wird. Hierdurch wird im Momente das erreicht, was bei sämtlichen anderen Methoden erst nach längerer Zeit im Butterfasse möglich ist. Den Hauptwert des Verfahrens sieht aber Verf. darin, daß der Radiatorbetrieb den Molkereibesitzer zwingt, seine Milch zu pasteurisieren. Deshalb plaidiert er für die Einführung in Deutschland, welcher bisher noch die Versagung der nachgesuchten Patentierung im Wege steht. Prüssian (Wiesbaden).

Entwickelungshemmung und Vernichtung der Bakterien etc.

Lüstner, G., Werden die Spinnen von der Bordelaiser Brühe getötet? (Mitteil. über Weinbau und Kellerwirtschaft. Jahrg. XI. 1899. No. 10. p. 150.)

Gegenüber der Befürchtung, es könnten die im Kampfe gegen verschiedene Rebenschädlinge nützlichen Spinnen durch das Besprengen der Reben mit Bordelaiser Brühe getötet werden, hat Verf. durch Versuche festgestellt, daß die Spinnen durch das erwähnte Verfahren nicht geschädigt werden. Moritz (Berlin).

Truchot, Ch., Les traitements au permanganate de potasse contre l'Oidium. (La vigne américaine. Année XXIII. 1899. No. 10. p. 300.)

Verf. empfiehlt die Bekämpfung des Oidiums vermittelst einer Mischung von 125 g Kaliumpermanganat, 3 kg Kalk und 100 l Wasser.
Moritz (Berlin).

Chuard, E., Les bouillies-engrais pour le traitement contre le Mildiou. (La vigne française. 1899. No. 18. p. 277. — Nach: Chronique agric. du canton de Vaud.)

Verf. weist darauf hin, daß man an Stelle der Kupfersodabrühe mit Vorteil eine Kupferpotaschebrühe anwenden könne, deren Bereitung und Zusammensetzung er des näheren angiebt.
Moritz (Berlin).

Cazeaux-Cazalet, G., Traitement du Black-Rot. (La vigne française. 1899. No. 10. p. 153—156. — Nach Feuille Vinicole de la Gironde.)

Nach den Erfahrungen des Verf.'s stellen die Kupfersalze ein sicheres Mittel gegen den Black-Rot dar, wenn sie zu gewissen Perioden angewendet werden. Diese Perioden sollen dann eintreten, wenn bei Regenwetter eine Temperaturverminderung sich zeigt, nicht aber, wenn es bei normaler oder erhöhter Temperatur regnet und auch nicht, wenn es kühl und trocken, oder trocken und warm ist.
Moritz (Berlin).

Neue Litteratur,

zusammengestellt von

San.-Rat Dr. Arthur Würzburg,

Bibliothekar im Kaiserl. Gesundheitsamte in Berlin.

Allgemeines über Bakterien und Parasiten.

Duclaux, E., Traité de microbiologie. T. III. Fermentation alcoolique. Paris (Masson et Cie.) 1899. 15 fr.

Untersuchungsmethoden, Instrumente u. s. w.

Trétrop, La recherche des bactéries anaérobies. (Annal. de la soc. de méd. d'Anvers. 1899. juin, juillet.)

Wright, J. H., A simple method for anaërobic cultivation in fluid media. (Centralbl. f. Bakteriol. etc. I. Abt. Bd. XXVII. 1900. No. 2. p. 74—75.)

Systematik, Morphologie und Biologie.

Bendix, E., Ueber die Gärung schwer vergärbarer Zuckerarten. (Ztschr. f. diätet. u. physikal. Therap. Bd. III. 1899. Heft 7. p. 587—590.)

Bienstock, Untersuchung über die Aetiologie der Eiweißfäulnis. (Arch. f. Hygiene. Bd. XXXVI. 1899. Heft 4. p. 335—389.)

Bourquelot, E. et Hérissey, H., Sur les ferments solubles produits pendant la germination par les graines à albumen corné. (Compt. rend. de l'acad. d. scienc. T. CXXX. 1900. No. 1. p. 42—44.)

Braun, M., Die Fascioliden-Gattung Clinostomum Leidy. (Centralbl. f. Bakteriol. etc. I. Abt. Bd. XXVII. 1900. No. 1. p. 24—32.)

Cavara, F., Sur quelques champignons parasites nouveaux ou peu connus. (Rev. mycol. 1899. No. 82. p. 101—105.)

Cholodkovsky, N., Aphidologische Mitteilungen. (Zool. Anzeiger. 1899. No. 602. p. 468—477.)

Deeleman, M., Vergleichende Untersuchungen über coliähnliche Bakterienarten. (Centralbl. f. Bakteriol. etc. I. Abt. Bd. XXVI. 1899. No. 16/17, 18/19, 25. p. 501—504, 541—546, 819—823.)

Jacoby, M., Descriptions of new species of South American phytophagous coleoptera. (Entomologist. 1899. Oct., Nov. p. 247—250, 270—273.)

Jacoby, S., Beiträge zur Kenntnis einiger Distomen. (Arch. f. Naturgesch. 1900. Heft 1. p. 1—30.)

Jägerskiöld, L. A., Diplostomum macrostomum n. sp. (Centralbl. f. Bakteriol. etc. I. Abt. Bd. XXVII. 1900. No. 1. p. 33—37.)

— —, Ein neuer Typus von Kopulationsorganen bei Distomum megastomum. (Ibid. No. 2. p. 68—74.)

Kedzior, L., Ueber den Einfluß des Sonnenlichtes auf Bakterien. (Arch. f. Hygiene. Bd. XXXVI. 1899. Heft 4. p. 323—334.)

Lister, A., Mycetozoa from the state of Washington. (Journ. of botany Brit. and foreign. 1899. No. 443. p. 463—464.)

Lühe, M., Ueber Bothrimonus Duv. und verwandte Bothriocephaliden. (Zool. Anzeiger. 1900. No. 605. p. 8—14.)

Macbride, T. H., The North American slime moulds; being a list of all species of Myxomycetes hitherto described from North America including Central America. 8°. 17, 269 p. New York (Macmillan Co.) 1899. 2,25 $.

de Magalhães, P. S., Eine sehr seltene Anomalie von Taenia solium. (Centralbl. f. Bakteriol. etc. I. Abt. Bd. XXVII. 1900. No. 2. p. 66—68.)

Maire, R., Sur les phénomènes cytologiques précédant et accompagnant la formation de la téleutospore chez le Puccinia Liliacearum Duby. (Compt. rend. de l'acad. d. scienc. T. CXXIX. 1899. No. 21. p. 839—841.)

Meyer, A., Ueber Geißeln, Reservestoffe, Kerne und Sporenbildung der Bakterien. (Flora. 1899. Heft 5. p. 428—468.)

Müller, F., Ueber das Reduktionsvermögen der Bakterien. (Centralbl. f. Bakteriol. etc. I. Abt. Bd. XXVI. 1899. No. 25. p. 801—819.)

Odhner, Th., Aporocotyle simplex n. g. n. sp., ein neuer Typus von ektoparasitischen Trematoden. (Centralbl. f. Bakteriol. etc. I. Abt. Bd. XXVII. 1900. No. 2. p. 62—66.)

Plenge, H., Ueber die Verbindungen zwischen Geißel und Kern bei den Schwärmerzellen der Mycetozoen und bei Flagellaten und über die an Metazoen aufgefundenen Beziehungen der Flimmerapparate zum Protoplasma und Kern. [Inaug.-Diss.] gr. 8°. 60 p. Marburg 1899.

Radais, Sur une zooglée bactérienne de forme définie. (Compt. rend. de l'acad. d. scienc. T. CXXIX. 1899. No. 26. p. 1279—1281.)

Schönfeld, F., Einige Versuche zur Fortzüchtung verschiedener Sarcinen-Rassen. (Wchschr. f. Brauerei. 1899. No. 51. p. 681—683.)

Speiser, P., Fledermausparasiten. (Entomol. Jahrb. Krancher 1899. p. 220—224.)

Weiſs, E., Ueber drei in gesäuerten Rübenschnitzeln neu aufgefundene Milchsäurebakterien. [Inaug.-Diss. Göttingen.] gr. 8°. 39 p. Langensalza 1898.

Yasuda, A., On the influence of inorganic salts upon the conidia-formation of Aspergillus niger. (Botan. magaz. Tokyo. 1899. No. 149. p. 85—90.)

Beziehungen der Bakterien und Parasiten zur unbelebten Natur.

Luft und Wasser.

Adriani, P., De vervuiling onzer binnenwateren en het drinkwater-vraagstuk. (Nederl. milit. geneesk. Arch. 1899. aflev. 3. p. 271—286.)

Gasperini, G., Sulla così detta Crenothrix Kühniana o polyspora in rapporto alla sorveglianza igienica delle acque potabili. 8°. 124 p. Pisa (E. Spoerri) 1899. 6 £.

Nahrungs- und Genußmittel im allgemeinen, Gebrauchsgegenstände.

Liebreich, O., Gutachten über die Wirkung der Borsäure und des Borax. (Vierteljahrsschr. f. gerichtl. Med. etc. 1900. Heft 1. p. 83—125.)

— —, The so-called danger from the use of boric acid in preserved foods. (Lancet. 1900. No. 1. p. 13—15.)

Fleisch.

Borntraeger, Die Beurteilung des Zusatzes schwefligsaurer Salze zum Fleische vom sanitätspolizeilichen Standpunkte. (Gesundheit. 1899. No. 24. p. 461—468.)

Turski, Die Beurteilung finniger Rinder. Nach dem Finnenerlaß vom 18. November 1897. (Berl. tierärztl. Wchschr. 1899. No. 51. p. 613—616.)

Milch, Molkerei.

Fuchs, F., Ueber marktpolizeiliche Milchuntersuchungen. [Inaug.-Diss.] gr. 8°. 31 p. Greifswald 1899.

Piazza, J. E., Sobre la leche y la manteca que se despachan en el mercado de la Plata. gr. 8°. 27 p. La Plata 1899.

Bier, Brauerei.

Kropf, P., Gärverfahren für Bier zur Beschleunigung der Klärung und Aromatisierung desselben unter Vermeidung einer Nachgärung. (Dtsche Brau-Industrie. 1899. No. 67. p. 793—794.)

Vandam, L., Des causes microbiennes des fermentations défectueuses en brasserie. (Gaz. du brasseur. 1899. p. 1224—1226.)

Wein, Weinbereitung.

Convert, F., La viticulture et la vinification avant 1800. (Rev. de viticult. 1899. No. 300, 306, 309. p. 321—324, 493—495, 577—582.)

Cordier, J. A., Recherches sur les levures du vignoble de Champagne. 8°. Paris (Soc. d'Edit. scient.) 1899. 3,50 fr.

Müller-Thurgau, H., Der Milchsäurestich der Obst- und Traubenweine. (Weinbau u. Weinhandel. 1899. No. 51, 52. p. 486, 494—495.)

Andere Nahrungs- und Genußmittel.

Reuter, E., A serious attack on the apple fruit by Argyresthia conjugella in Europe. (Canad. entomol. Vol. XXXI. 1899. No. 1. p. 12—14.)

Wohnungen, Abfallstoffe etc.

Abba, Sulla disinfezione degli ambienti colla formaldeide. (Riv. d' igiene e san. pubbl. 1899. No. 24. p. 1005—1011.)

— —, Ancora sulla disinfezione degli ambienti colla formaldeide. (Ibid. 1900. No. 2. p. 37—41.)

Du Bois Saint-Sevrin et Pélissier, Rapport sur les expériences comparatives de désinfection, effectuées au moyen de l'aldéhyde formique (procédés de l'autoclave formogène Trillat et du dissociateur Guasco). (Arch. de méd. navale. 1899. No. 11. p. 321—351.)

Beziehungen der Bakterien und Parasiten zu Pflanzen.

Harmlose Bakterien und Parasiten.

Nobbe, F. u. Hiltner, L., Ueber die Wirkung der Leguminosenknöllchen in der Wasserkultur. (Ein weiterer Beitrag zur Lösung der Frage, ob die Leguminosen den atmosphärischen Stickstoff durch die Blätter oder durch die Wurzelknöllchen aufnehmen.) (Die landwirtschaftl. Versuchsstationen. Bd. LII. 1899. Heft 5/6. p. 455—465.)

Krankheitserregende Bakterien und Parasiten.

van Breda de Haan, J., Levensgeschiedenis en bestrijding van het tabaksaaltje (Heterodera radicicola) in Deli. (Mededeel. uit's Lands plantentuin 1899.) 4⁰. 68 p. Batavia (G. Kolff & Co.) 1899.

Cockerell, T. D. A., A new meloid beetle parasitic on Anthophora (Leonia neomexicana n. sp.). (Psyche. Vol. VIII. 1899. No. 292. p. 416—417.)

Frank, Die Reinigung der Felder von den Pflanzenüberresten nach der Ernte als wichtiges Schutzmittel gegen Pflanzenschädlinge. (Blätter f. Zuckerrübenbau. 1899. No. 22. p. 337—339.)

Fuller, C., The new peach Mite (Phytoptus sp.). (Entomol. News. Vol. XX. 1899. No. 7. p. 207—208.)

Lüstner, G., Ein neuer Feind des Weinstockes. (Mitteil. üb. Weinbau u. Kellerwirtsch. 1899. No. 7. p. 97—99.)

Molliard, M., Sur les modifications histologiques produites dans les tiges par l'action des Phytoptus. (Compt. rend. de l'acad. d. scienc. T. CXXIX. 1899. No. 21. p. 841—844.)

Newstead, R., General index to annual reports of observations of injurious insects, 1877—1898. By E. A. Ormerod. With preface by the Author. 8⁰. sd., 70 p. London (Simpkin) 1899. 1 sh. 6 d.

Pinolini, D., Gli insetti dannosi alla vite. 16⁰. 223 p. Milano (Vallardi) 1899. 2,50 £.

Inhalt.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.

CENTRALBLATT
für
Bakteriologie, Parasitenkunde u. Infektionskrankheiten.
Zweite Abteilung:
Allgemeine, landwirtschaftlich-technologische Bakteriologie, Gärungsphysiologie, Pflanzenpathologie und Pflanzenschutz.
In Verbindung mit
Prof. Dr. **Adametz** in Wien, Prof. Dr. **J. Behrens** in Karlsruhe i. B., Prof. Dr. **M. W. Beijerinck** in Delft, Geh. Regierungsrat Prof. Dr. **A. B. Frank** in Berlin, Dr. **v. Freudenreich** in Bern, Privatdocent Dr. **Lindau** in Berlin, Prof. Dr. **Lindner** in Berlin, Dr. **Morris**, Chef des Hansen-Laboratory, Jenner-Institute of Preventive Medicine in London, Prof. Dr. **Müller-Thurgau** in Wädensweil, Dr. **Erwin F. Smith** in Washington, D. C., U. S. A., Prof. Dr. **Stutzer** in Breslau, Prof. Dr. **Wehmer** in Hannover, Prof. Dr. **Weigmann** in Kiel und Prof. Dr. **Winogradsky** in St. Petersburg
herausgegeben von
Dr. O. Uhlworm in Cassel
und
Prof. Dr. Emil Christian Hansen in Kopenhagen.
Verlag von Gustav Fischer in Jena.

VI. Bd. **Jena**, den 28. Februar 1900. **No. 5.**

Jährlich erscheinen 26 Nummern. Preis für den Band (Jahrgang) 20 Mark. Preis für eine einfache Nummer 75 Pfg., für eine Doppelnummer 1 Mark 50 Pfg. Nummern mit Tafeln kosten für jede Tafel 50 Pfg. mehr.
Hierzu als regelmäßige Beilage die Inhaltsübersichten der I. Abteilung des Centralblattes.

Wünsche wegen Lieferung von besonderen Abdrücken wollen die Herren Mitarbeiter auf die Manuskripte schreiben oder bei Rücksendung der ersten Korrekturabzüge der Verlagsbuchhandlung mitteilen.

Original-Mitteilungen.

Ueber einen neuen chromogenen Bacillus aus städtischem Kanalwasser.

Von Dr. **W. Rullmann** in München.

II. Teil[1]).

Gelegentlich meiner Untersuchungen über den Einfluß der Laboratoriumsluft bei Züchtung von Nitrobakterien[2]) habe ich auch oben

1) I. Teil s. dies. Centralbl. I. Abt. Bd. XXIV. No. 13. p. 465 ff.
2) Dies. Centralbl. II. Abt. Bd. V. No. 7 u. 21.

angeführten Bacillus, der den Namen Bacillus ferrugineus erhielt, in den Kreis der zu beobachtenden Bakterien gezogen und dabei wiederholt konstatiert, daß dieser bei längerem Verweilen in der bekannten anorganischen Winogradsky'schen Nährlösung mit Ammonsulfat die in diesem Centralblatt [1]) beschriebenen eigenartigen Wuchsformen, die ich vorläufig kurzer Hand als Hungerformen bezeichnen möchte, bildet.

Wenn ich auch schon vor einigen Monaten die Bildung dieser Formen gerade bei dem Bacillus ferrugineus nachgewiesen hatte, so trete ich doch erst jetzt mit der Veröffentlichung hervor, weil inzwischen mehrfach angestellte Züchtungsversuche nicht allein stets die Hungerformen, sondern auch deren Rückbildung in die ursprünglichen Stäbchenformen nach Uebertragung auf organische Nährböden ergaben.

Aus meinen früheren Mitteilungen über diese Formen [2]) geht hervor, daß sie sich bei Einsaat der verschiedensten Erden und Wasserproben in die erwähnte Winogradsky'sche Nährlösung bilden, es mußte daher vor allen Dingen das Bestreben auf Erhalten einer Reinkultur gerichtet sein. Hier stellten sich aber damals außergewöhnliche Schwierigkeiten durch den Umstand ein, daß, wenn auch von einer einzigen Kolonie auf der Gelatineplatte ausgegangen worden war, bei der Züchtung und dem längeren Verweilen der in Erlenmeyer-Kölbchen befindlichen Kulturen sich bei der von Zeit zu Zeit stattfindenden mikroskopischen Untersuchung wieder Zweifel über die Reinheit ergaben, da einerseits die Zwischenstadien der Entwickelung verschiedene Deutung zuließen und andererseits die hiervon abgeimpften Kulturen sich bei Uebertragung auf organische Nährböden verschieden verhielten, da, wie sich jetzt herausgestellt hat, ganz verschiedene Bakterien diese Hungerformen bilden können. Endlich gelang es mir denn, in dem Bacillus ferrugineus ein geeignetes Ausgangsmaterial zu finden, weil solcher vermöge seiner tinktoriellen Kraft, welche sich auf allen organischen Nährböden bereits nach 24 Stunden bei 30° äußert, den zweifellosen Beweis seiner unveränderten Eigenschaften ergiebt. Leider bereitet aber die mikroskopische Verfolgung der Rückbildung der Hungerformen in die ursprüngliche Stäbchenform der Beobachtung sehr große Schwierigkeiten, da dieselben im hängenden Tropfen vermöge der Feinheit der verzweigten und unverzweigten Fäden ungefärbt nicht zu sehen sind. Es schlugen alle Versuche, diesen Vorgang mittels geheizten Objekttischen zu beobachten, fehl, da hierbei die Möglichkeit, die Fäden im lebenden Zustande mittels wässeriger Fuchsinlösung sichtbar zu machen, wegfällt. Als einzige Auskunft erübrigte nur die Anlage von Strichkulturen auf Fleischwasser-Peptonagar, welche nach dem Einstellen in den 37°-Thermostaten anfangs jede halbe Stunde untersucht wurden.

Nach den ersten 8 Beobachtungen, also nach 4 Stunden, waren

1) Ibid. Bd. III. p. 229.
2) Ibid. Bd. IV. p. 152 u. 153.

von den Hungerformen ganz vereinzelte noch sichtbar, nach 5 und 6 Stunden aber waren diese gänzlich verschwunden und der Bacillus ferrugineus zeigte sich nur noch in seiner reinen Stäbchenform und bildete, in den 30°-Thermostaten gestellt, abermals in 24 Stunden die äußerst intensive rostbraune Farbe, welche bei 37° nicht in dieser Zeit eintritt. Auf diese Weise beobachtet man bei der Umwandlung in die ursprüngliche Stäbchenform bereits nach $1^1/_2$ Stunden ein Längenwachstum der anisodiametrischen Kurzstäbchen der Hungerform, aus deren Polenden die feinen Fäden hervorgewachsen sind. Dagegen konnte über die Umwandlung der Fäden selbst vorläufig noch kein klares Bild erzielt werden, da wohl bei der angewendeten Temperatur von 37° der Prozeß zu rasch verläuft; es werden daher diese Versuche bei niederen Temperaturen zu 30 und 22° erneuert werden.

Ueber die Morphologie der Hungerformen hoffe ich später ein abschließendes Resultat bringen zu können. Gelegenheit zur eingehenden Untersuchung wird sich noch reichlich ergeben, da ich auf Grund von Beobachtungen zu der Annahme berechtigt bin, daß diese Formen sich bei ganz verschiedenen, pathogenen und nicht pathogenen, Bakterien bilden und nicht nur Eigenschaft einer Bakterienart sind.

So gelang es mir, die Bildung erwähnter Formen bei weiteren farbstoffbildenden Bakterien und einem mit sehr charakteristischen Eigenschaften versehenen Pilz zu erzielen, desgleichen die Rückbildung auf organischen Nährböden in 24 Stunden mit allen Eigenschaften des ursprünglich eingesäten Bakteriums.

Wiederholte Versuche sollen die Bestätigung bringen und sei hier noch bemerkt, daß zur Hervorbringung der Hungerformen in Winogradsky'scher Lösung gewöhnlich die Temperatur von 30° angewendet wurde; die Zeit der Entwickelung ist jedoch wechselnd, da in einzelnen Fällen wenige Wochen genügten, dann aber auch wieder mehrere Monate erforderlich waren.

Der Bacillus ferrugineus ist in dem Král'schen Laboratorium in Prag erhältlich.

München, 20. Dezember 1899.

Untersuchungen über die Ursachen des Ranzigwerdens der Butter.

[Aus dem hygienischen Institute der Universität Gießen.]

Von **R. Reinmann**, Assistent an der Versuchsstation Hildesheim.

Das Wichtigste aus der einschlägigen Litteratur.

Nach den bis jetzt veröffentlichten Arbeiten gehen die Ansichten bezüglich der Frage, welche Ursachen beim Ranzigwerden der Butter eine Rolle spielen, noch weit auseinander.

Während z. B. Einige den Sauerstoff und die Feuchtigkeit der Luft bei gleichzeitiger Einwirkung von Licht und Wärme als Ursache vermuten, glauben Andere das Ranzigwerden ausschließlich auf die Wirkung von Mikroorganismen zurückführen zu sollen. Eine weitere Anschauung ist die, daß alle angeführten Faktoren gemeinschaftlich sich an diesem Prozeß beteiligen. Endlich wurde auch noch Fermentwirkung angenommen.

Mit Rücksicht auf den Wechsel der Anschauungen über das Ranzigwerden gestatte ich mir, die Litteratur über diesen Gegenstand in chronologischer Reihenfolge anzuführen.

In dieser Beziehung knüpfe ich am besten an das Werk von Liebig[1]) an, wonach das Ranzigwerden der Fette durch beigemengte, fermentartig wirkende, fremde Stoffe verursacht werde, indem Fettsäuren in Freiheit gesetzt würden und Glyceryloxydhydrat entweder abgeschieden oder weiter zersetzt wird. Durch Einwirkung von Sauerstoff entstünden demnach aus dem Glyceryloxyd und den fremden Stoffen Produkte, welche das Ranzigwerden bedingen. Die Fette würden um so weniger leicht ranzig, je weniger fremde Stoffe sie enthielten.

Aehnlich schreibt auch Löwig[2]):

„Das Ranzigwerden der Fette erfolgt durch eine Art Fermentation bei Anwesenheit von Wasser und Luft; wie es scheint, nur bei Gegenwart stickstoffhaltiger Substanzen."

Nach Berthelot[3]) ist die Feuchtigkeit das Haupterfordernis für das Ranzigwerden der Fette; den fremden Stoffen kommt eine beschleunigende, keineswegs bedeutende Rolle zu; die Oxydation ist nur ein begleitender Vorgang, der vor allem durch die Gegenwart des Oleïns bedingt wird.

Die gleiche Meinung wird auch von Kopp[4]) geäußert.

v. Fehling[5]) schreibt über diesen Gegenstand Folgendes:

„Die nicht trocknenden Oele nehmen Sauerstoff auf und werden ‚ranzig'. In noch nicht genügend gekannter Weise treten hierbei freie Fettsäuren und Glycerin, dann Ameisensäure, Propionsäure etc. auf. Ob Eiweiß, Schleim etc., welche die Zersetzung beschleunigen, als Sauerstoffüberträger oder Fermente wirken, ist noch nicht festgestellt; für letztere Auffassung spricht die Thatsache, daß das Ranzigwerden durch Kreosot und andere Mittel verhindert wird."

Nach Hagemann[6]) liegt beim Ranzigwerden eine Buttersäuregärung nicht vor. Da aber der ranzige Geruch und Geschmack durch freie Fettsäuren, besonders Buttersäure, hervorgerufen wird, so nimmt er an, daß die durch den Milchzucker entstandene Milchsäure eine Spaltung der Glyceride der Buttersäure bewirke.

Nach Schädler[7]) beruht das Ranzigwerden auf einer Oxyda-

---

1) Liebig, Handbuch d. org. Chemie. 1843.
2) Löwig, Org. Chemie. 1847. p. 115.
3) Journal de pharm. et de chim. 1855. p. 96.
4) Kopp, Org. Chemie. 1860.
5) Handbuch d. org. Chemie. 1878.
6) Hagemann, Ein Beitrag zur Butterkonservierung. 1882.
7) Schädler, Technologie der Fette und Oele. 1883. p. 31.

tion der Fette, die anfangs ziemlich langsam, später aber rascher vor sich geht. Zunächst findet eine, vielleicht durch gewisse Fermente herbeigeführte Spaltung der Fette in freie Fettsäuren und Glycerin statt; durch Sauerstoffaufnahme bilden sich aus Glycerin und aus den freien Fettsäuren, namentlich der Oelsäure, verschiedene flüchtige Oelsäuren, welche den Fetten den ranzigen, charakteristischen Geschmack und Geruch verleihen.

Nach Wiel und Gnehm[1]) wird die Butter ranzig unter dem Einflusse des Pilzes der Milch, welcher beim Buttern nicht zerstört werde.

Soxhlet[2]) ist der Ansicht, daß Mikroorganismen beim Ranzigwerden keine bedeutende Rolle spielen, da ausgelassenes Butterfett, welches kaum Wasser, Caseïn und Salze enthielt, ebenfalls ranzig würde.

Nach Virchow[3]) wird das Ranzigwerden der Fette, wenn nicht ausschließlich, so doch hauptsächlich durch Mikroorganismen verursacht.

Nach Escherich[4]) kommt den Darmbakterien ein hohes Fettspaltungvermögen zu.

Auch Müller[5]) äußert dieselbe Meinung, welche von Lüdy[6]) bestätigt wurde.

Nach Gottstein[7]) sollen anaërobe Bakterien die Fette zersetzen.

Nach Duclaux[8]) sind es nicht Mikroorganismen, welche zersetzend auf das Butterfett einwirken, sondern der Sauerstoff der Luft unter gleichzeitiger Einwirkung von Licht und Wärme.

Gröger[9]) kommt zu dem Ergebnis, daß die Ranzigkeit dadurch bedingt wird, daß die Fette durch Wasser in Fettsäuren und Glycerin gespalten werden, worauf eine Oxydation dieser Spaltungsprodukte durch den Luftsauerstoff erfolgt.

Nach Fermi[10]) ist es eine besondere Gruppe von aus lebendem Protoplasma abgesonderten Fermenten (Enzyme), welcher die Eigenschaft zukommt, die Fette in Glycerin und freie Fettsäuren zu spalten.

Die Untersuchungen von Ritsert[11]) lieferten das Ergebnis, daß weder Bakterien noch Fermente das Ranzigwerden veranlassen. Feuchtigkeit wäre ebenfalls kein notwendiger Faktor. Das Ranzigwerden sei ein direkter Oxydationsvorgang. Proportional der Lichteinwirkung verlaufe der Prozeß schneller. Um das Ranzigwerden

---

1) Handb. d. Hyg. 1880. p. 93.
2) Jahresber. üb. d. Fortschr. auf d. Gesamtgebiete d. Agrikultur-Cemie. 1885. p. 597.
3) Repert. d. analyt. Chemie. 1886. p 489.
4) Die Darmbakterien d. Säuglings. [Inaug.-Diss.] 1886. p. 158.
5) Zeitschr. f. klin. Med. Bd. XII. p. 61.
6) Arch. f. exp. Path. 1889. p. 347.
7) Berl. klin. Wochenschr. 1887. No. 48.
8) Ann. de l'Inst. Pasteur. 1888.
9) Zeitschr. f. angewandte Chemie. Bd. II. 1889. p. 61.
10) Arch. f. Hyg. Bd. X. 1890. p. 1.
11) Untersuch. über das Ranzigwerden der Fette. [Inaug.-Diss.] Bern 1890.

zu verhüten, wäre absoluter Luftabschluß erforderlich, in diesem Falle wäre es nun einerlei, ob die Fette dem Licht ausgesetzt wären oder nicht. Ritsert benutzte für seine Versuche vorwiegend Schweinefett.

Die Ritsert'schen Ergebnisse wurden auch von Arata[1]) bestätigt.

Benedikt[2]) äußert sich folgendermaßen:

„Da die Fette in chemisch reinem Zustande nicht ranzig werden, so schreibt man diese Veränderungen der natürlichen Fette kleinen Verunreinigungen zu, welche nach Art von Fermenten wirken sollen."

Nach Beilstein[3]) werden die Fette beim Stehen an der Luft leicht ranzig und dann übelriechend. Es beruht diese Erscheinung auf einer partiellen Zersetzung der Fette durch die Feuchtigkeit der Luft, wodurch Zerlegung in Glycerin und freie Fettsäuren eintritt.

Nach Baumann[4]) kommt dem Bacillus diatripeticus casei das Vermögen zu, Milchfett zu spalten.

Auch Lafar[5]) und Sigismund[6]) erkannten den Mikroorganismen einen wesentlichen Anteil beim Ranzigwerden der Butter zu.

v. Klecki's[7]) Untersuchungen führen aus, daß bei der Säuerung der Butter die Bakterien die Hauptrolle spielen, während die Oxydation des Butterfettes durch den Luftsauerstoff in Bezug auf die Bildung freier Säuren in weit geringerem Maße hierbei in Betracht kommt. Mit Fluorkali (4 Proz.) imprägnierte Butter behielt ihr Aroma, ihren Geschmack und ihre Konsistenz.

Späth[8]) faßt das Ranzigwerden als einen Oxydationsvorgang auf, verursacht durch die Einwirkung des Lichtes und des atmosphärischen Sauerstoffs. Hierbei würden hauptsächlich die ungesättigten Fettsäuren (Oelsäure) unter vorwiegender Bildung von Säuren mit niederem Kohlenstoffgehalt angegriffen.

Ueber das Ranzigwerden der Butter schreibt A. Stutzer[9]) Folgendes:

„Die wesentlichsten Veränderungen der Butter beim Aufbewahren sind auf die Lebensthätigkeit von Bakterien und Mikroorganismen zurückzuführen, welche in dem Nichtfett der Butter, also in dem Käsestoff und den löslichen Bestandteilen, die ebenfalls aus der Milch herrühren, wie Milchzucker u. s. w., günstige Bedingungen zur Erhaltung ihres Lebens finden. Außerdem scheint die direkte Oxydation der Fette durch atmosphärischen Sauerstoff eine wichtige Rolle zu spielen, insbesondere beim Ranzigwerden.

1) Sulli modificazioni che subisce il grasso dell burro nell' irrancidimento. (Annali dell' instituto d'Igiene sperimentale dell' Università di Roma. Nuova Ser. Vol. II. Fasc. 2.)

2) Analyse der Fette u. Wachsarten. 1892. p. 39.

3) Org. Chemie. Bd. I. 1893. p. 450.

4) Beiträge zur Erforsch. der Käsereifung. (Landw. Versuchsstationen. Bd. XLII. 1893. p. 211.)

5) Bakt. Studien über Butter. (Arch. f. Hyg. 1890. p. 1.)

6) Untersuch. üb. d. Ranzigwerden d. Butter. [Inaug.-Diss.] Halle 1893.

7) Untersuch. über Ranzigwerden d. Butter. [Inaug.-Diss.] Leipzig 1894.

8) Zeitschr. f. analyt. Chemie. Bd. XXXV. 1896. p. 471.

9) Weyl, Handb. d. Hyg. Bd. III. 1896. p. 194.

Gleichzeitige Einwirkung von Licht beschleunigt die Oxydation, jedoch fehlt dem Licht allein, bei Abwesenheit des atmosphärischen Sauerstoffs, das Vermögen, das Fett ranzig zu machen."

Auch die Untersuchungen von H. Schmidt[1]) scheinen den Bakterien beim Ranzigwerden eine wesentliche Bedeutung beizulegen. Er fand, daß bei Aufbewahrung im Eisschrank die Butter am besten vor Ranzigkeit geschützt ist.

In der in neuester Zeit veröffentlichten Arbeit von Amthor[2]) wird ebenfalls die Vermutung ausgesprochen, daß als Ursache der Bildung der Geruchsstoffe in der Butter zweifellos Mikroorganismen anzusehen wären, welche aus dem Milchzucker Alkohol bilden. Zugleich tritt eine Spaltung der Glyceride ein, wodurch die Säure zur Esterbildung geliefert wird. Da nach Duclaux (l. c.) das Glycerid der Buttersäure am wenigsten beständig ist, so kommt hier hauptsächlich die Buttersäure in Betracht. Nach Amthor sind es nicht die freien Fettsäuren, welche der Butter den charakteristischen Geschmack und Geruch erteilen, sondern Buttersäureester.

Mit den angeführten Arbeiten wäre, soweit mir bekannt, die Litteratur über diesen Gegenstand, der Hauptsache nach wenigstens, erschöpft. Es geht daraus zur Genüge hervor, daß man sich über die Ursachen und den Chemismus des Ranzigwerdens noch lange nicht klar ist.

Diese widersprechenden Ansichten könnten zum Teil darin ihre Erklärung finden, daß man die Butter als ein den übrigen Fetten gleichartiges Produkt hinstellte; indessen darf natürlich nicht vergessen werden, daß bei der Butter, die außer Fett auch noch reichlich Eiweißstoffe und Milchzucker enthält, die Verhältnisse anders liegen können.

Bei dem massenhaften Vorkommen von Mikroorganismen in der Butter[3]) ist schon von vornherein zu vermuten, daß diese bei dem Zersetzungsprozeß eine wichtige Rolle spielen.

Erinnern wir uns ferner an die sehr interessanten Untersuchungen von Weigmann[4]) und v. Freudenreich[5]) über den Reifungsprozeß der Emmenthalerkäse, die des Bestimmtesten ergeben haben, daß die Reifung dieser Käse nur durch bestimmte, nach Freudenreich Milchsäurebakterien, Mikroorganismen zustande kommt, so läßt sich die Wirkung der Mikroorganismen beim Ranzigwerden nicht so ohne weiteres in Abrede stellen.

In Anbetracht der großen Bedeutung, welche die Butter als Nahrungsmittel spielt, habe ich mir nun die Aufgabe gestellt, zur Lösung dieser für die Wissenschaft wie für die Praxis hochwichtigen Frage beizutragen.

---

1) Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. Bd. XXVIII. 1898. p. 186.

2) Ueber die Ursachen beim Ranzigwerden der Butter. (Zeitschr. f. analyt. Chemie. Bd. XXXVIII. 1899. p. 19.)

3) Nach Lafar (l. c.) enthält die Butter im Mittel 10—20 Millionen Keime per 1 g Substanz.

4) Ueber die Beteiligung der Milchsäurebakterien an der Käsereifung. (Centralbl. f. Bakt. etc. II. Abt. Bd. IV. p. 593 u. 820.)

5) Ebenda. Bd. V. p. 243.

Hat man erst einmal die richtigen Ursachen erkannt, so dürfte die Zeit nicht mehr allzufern liegen, durch ein geeignetes Vorgehen das Ranzigwerden zu verhüten. Vorliegende Arbeit liefert auch in dieser Richtung schon einige Ergebnisse.

Arbeitsplan.

Die Lösung der Frage über die Ursachen des Ranzigwerdens der Butter erfordert eine Betrachtung in verschiedener Hinsicht.

Zunächst muß festgestellt werden, wann eine Butter überhaupt als ranzig bezeichnet werden kann und welchen Maßstab man für die Beurteilung einer solchen Butter in Anwendung zu bringen hat. Man wird sich ferner zu fragen haben, inwieweit die chemische Zusammensetzung einer Butter, namentlich der Gehalt an Caseïn nnd Milchzucker, einen Einfluß auf das Ranzigwerden ausübt. Aus den Litteraturangaben geht weiter hervor, daß man den Einfluß von Luft und Licht zu berücksichtigen hat. Endlich sind noch die Beziehungen der Mikroorganismen und Fermente (Enzyme) zum Ranzigwerden festzustellen.

Aus diesen Erörterungen ergeben sich nun die Fragen von selbst, nämlich:

I. Begriff des Ranzigseins und Maßstab für die Beurteilung einer solchen Butter.

II. Einfluß der chemischen Zusammensetzung der Butter auf das Ranzigwerden.

III. Einfluß des Sauerstoffs und des Lichts auf das Ranzigwerden.

IV. Einfluß der Mikroorganismen und Fermente auf das Ranzigwerden der Butter.

I. Begriff des Ranzigseins und Massstab für die Beurteilung einer ranzigen Butter.

Bei der Beurteilung einer Butter hat man gewöhnlich das Hauptgewicht auf die Bestimmung der freien Fettsäuren (flüchtige und nicht flüchtige) gelegt. Die Bestimmung der freien Fettsäuren giebt wohl Aufschluß über die in der Butter vorgegangenen Veränderungen, nicht aber über den Grad der Ranzigkeit derselben. Es trifft zwar für gewöhnlich zu, daß eine hohe Acidität auch einer stärkeren Ranzigkeit entspricht; es kann jedoch eine Butter stark sauer sein ohne ranzig zu sein, umgekehrt braucht eine ranzige Butter nicht auch einen hohen Säuregrad zu zeigen, wie das aus den später mitzuteilenden Versuchen hervorgeht.

Auf diesen Umstand haben übrigens schon Schweißinger[1]), Fischer[2]) und Besana[3]) aufmerksam gemacht, welche gefunden haben, daß die durch Geruch und Geschmack erkennbare Ranzigkeit nicht immer der Menge der im Butterfett enthaltenen Fettsäuren

1) Zeitschr. f. angewandte Chemie. 1890. p. 696.
2) Jahresber. d. chem. Untersuchungsanstalt der Stadt Breslau. 1890—1891.
3) Chemikerztg. 1891. p. 410.

proportional ist. Diese Angaben bestätigen auch Sendtner[1]) und Kämmerer[2]).

A. Schmidt[3]) unterscheidet saure Fette, ranzige Fette sowie saure und gleichzeitig ranzige Fette. Erstere enthalten sehr viel freie Fettsäuren, aber das freie Glycerin ist noch unverändert; bei ranzigen Fetten ist der Gehalt an freien Fettsäuren nicht sehr hoch, aber das freie Glycerin ist ganz oder teilweise zu Aldehyd oder Keton oxydiert. Ein Fett ist endlich sauer und gleichzeitig ranzig, wenn neben einem hohen Gehalt an freien Fettsäuren auch Oxydationsprodukte des Glycerins vorhanden sind.

Mayrhofer[4]) teilt mit, daß in den Destillaten ranziger Butter auch säureartige Verbindungen enthalten sind, durch welche, wie es scheint, nicht zum geringsten der ranzige Geschmack und Geruch einer Butter bedingt ist.

Nach diesen allgemeinen Angaben erscheint es mir nun angezeigt, den Begriff „ranzig" etwas näher zu definieren. Ich bezeichne eine Butter dann als ranzig, wenn sie jenen charakteristischen Geruch nach Buttersäureestern zeigt, den jede Butter annimmt, wenn sie nach der üblichen Weise hergestellt und aufbewahrt wird. Stellen wir z. B. eine Butter in direktes Sonnenlicht, so wird sie zwar sehr bald ungenießbar, aber sie zeigt nicht im geringsten diesen eigentümlichen, jeder ranzigen Butter eigenen Geruch nach Buttersäureestern.

Wenn einige Forscher behaupten, daß dem Sonnenlicht eine intensive Wirkung beim Ranzigwerden zukäme, so beruht dies eben darauf, daß sie unter Ranzigwerden auch diejenigen Veränderungen verstehen, welche durch das Sonnenlicht hervorgerufen werden.

Amthor (l. c.) hat nun vorgeschlagen, diese Ester quantitativ zu bestimmen und zwar nach folgender Methode:

10 g Butter werden mit Wasserdämpfen destilliert, bis 500 ccm übergegangen sind; die mit übergegangenen flüchtigen Fettsäuren werden mit $^1/_{10}$ Normalalkali neutralisiert, worauf 50 ccm $^1/_{10}$ Normalalkali zugesetzt und $^1/_2$ Stunde am Rückflußkühler gekocht wird. Das freie Alkali wird zurücktitriert. Die Differenz giebt die zur Verseifung der Ester nötige Alkalimenge an. Die erhaltene Zahl bezeichnet Amthor als Esterzahl und versteht darunter die Menge $^1/_{10}$ Normalalkali, welche zur Verseifung der Ester von 100 g Butter nötig sind. Bei nicht ranziger Butter wurde 0,23 ccm $^1/_{10}$ Normalalkali verbraucht, ranzige Butter verbrauchte 2 ccm.

Beim Aelterwerden der Butter sinkt nach Amthor die Esterzahl auf Null oder fast ganz auf Null und in diesem Moment ist auch fast jegliches Bouquet verschwunden.

Ich versuchte nun diesen eigentümlichen Stoff, welcher der Butter den ranzigen Geruch und Geschmack verleiht, zu konzentrieren, in der Hoffnung, es ließen sich dann eher Reaktionen anstellen, um dann auf einfache Weise frische Butter von ranziger chemisch unterscheiden zu können.

---

1) Forschungsber. über Lebensmittel etc. 1895. p. 290.
2) Bericht über die Thätigkeit der städt. Untersuchungsanstalt Nürnberg. 1897.
3) Zeitschr. f. analyt. Chemie. Bd. XXXVII. 1898. p. 301.
4) Zeitschr. f. Untersuchung der Nahrungs- u. Genußmittel. 1898. p. 552.

Zu diesem Zwecke destillierte ich ca. 500 g stark ranzige Butter und fing nun verschiedene Destillate auf. Das erste zeigte einen gar nicht unangenehmen Geruch, vorzüglich an Buttersäurebutylester erinnernd. Die anderen Destillate zeigten einen ganz anderen Geruch und waren auch stärker sauer.

Wegen überhäufter Arbeit konnten diese Versuche noch nicht zum Abschluß gebracht werden, zur Veröffentlichung werde ich eine spätere Gelegenheit benutzen.

Jedenfalls kann ich die Angaben von Amthor, daß es esterartige Verbindungen sind, welche der Butter den ranzigen Geschmack und Geruch erteilen, nur bestätigen.

Nach diesen Angaben, welche ich vorausschicken zu sollen glaubte, mögen hier einige Erörterungen folgen über die zur Bestimmung der freien Fettsäuren benutzte Methode.

Das Verfahren besteht darin, daß man 5—10 g Butter in absolutem Alkohol oder in einem Gemisch von 2 Teilen Aether und 1 Teil Alkohol löst und in diese Lösung mit alkoholischer $^1/_{10}$ Normalnatron- oder Kalilauge, unter Zusatz einiger Tropfen Phenolphtalein als Indikator, hineintitriert. Die Anzahl der verbrauchten Kubikcentimeter $^1/_{10}$ Normalalkali bezeichnet man dann als Säuregrad (S^0) und versteht unter einem Säuregrad diejenige Menge freier Fettsäuren in 100 g Butter, welche durch 1 ccm Normalalkali neutralisiert wird.

Nach Besana[1]) erfordert das Verfahren Beobachtung der kleinsten Einzelheiten, um vollkommen untereinander vergleichbare Resultate zu erhalten.

v. Klecki[2]) macht darauf aufmerksam, daß diese Methode bei Nichtbeachtung verschiedener Punkte „abenteuerliche Zahlen“ liefern könne und glaubt die Ursache hierfür in der CO_2 der Luft zu finden, sowie im schnellen und langsamen Titrieren. Er schreibt auf p. 59 seiner Arbeit:

> „Das zur Säurebestimmung in der Butter übliche Verfahren ist sehr mangelhaft und die mit dessen Hilfe ermittelten Zahlenwerte wenig zuverlässig; sollen richtige Resultate nach dieser Richtung erhalten werden, so muß der Absorption der Kohlensäure der Luft Rechnung getragen werden.“

Daß die Unsicherheit der Methode nicht auf die Einwirkung der der CO_2 der Luft zurückzuführen ist, davon hätte sich v. Klecki leicht überzeugen können, wenn er einen Indikator verwendet hätte, der auf CO_2 nicht reagiert, wie es z. B. Schmidt gethan hat, welcher als Indikator eine Alkannalösung verwendete.

Die Unsicherheit der Methode beruht nach meinen Erfahrungen nicht in dieser selbst, sondern in der mangelhaften Beherrschung derselben, oder aber, was schließlich auf dasselbe herauskommt, es ist die Ausführung nicht mit der erforderlichen Sorgfalt behandelt.

v. Klecki führt weiter aus, daß die Acidität einer Butter mit dem 17. Säuregrad das Maximum erreicht hätte, die teilweise viel höheren Zahlen, welche Sigismund (l. c.) erhalten hat, unterzieht er einer

1) Chemiker-Zeitung. 1891. No. 24. p. 410.
2) l. c. p. 38. u. 42.

herben Kritik. Ich muß diese Angaben von v. Klecki als nicht stichhaltig zurückweisen und betonen, daß die Höhe des Säuregrades nicht für jede Butter ein Maximum von 17 Säuregraden aufweist, sondern daß das Maximum des Säuregrades abhängig ist von dem Casein und Milchzuckergehalt [siehe die in No. 6 (Tab.) mitgeteilten Versuche]. Ich bin freilich weit davon entfernt, die von v. Klecki ermittelten Zahlenwerte anzuzweifeln; für die für seine Untersuchungen benutzte Butter mögen die Zahlen wohl richtig sein, wenigstens erhielt ich von einer Butter, die ziemlich die gleiche Zusammensetzung hatte wie die von v. Klecki benutzte, annähernd die gleichen Werte.

Was die Methode anbetrifft für die Bestimmung der Acidität einer Butter, so hat dieselbe im Laufe der Zeit verschiedene Abänderungen erfahren. Nach einigen vergleichenden Versuchen schien mir folgende die am meisten übereinstimmenden Resultate zu liefern:

5—10 g Butter wurden in einem Erlenmeyer'schen Kölbchen genau abgewogen und mit 25 ccm eines Gemisches von gleichen Teilen Aether und Alkohol versetzt, sodann auf dem Wasserbade solange erwärmt, bis das Gemisch anfing zu sieden, und sich die Butter gelöst hatte. Alsdann gab ich 3—4 Tropfen einer 2-proz. Phenolphtaleinlösung hinzu und ließ so lange von einer $^1/_{10}$ Normalnatronlauge zufließen, bis eine deutliche Rotfärbung eintrat. Hierbei habe ich jedoch zu bemerken, daß die Rotfärbung nach einiger Zeit wieder verschwindet, 2—3 Tropfen der erwähnten Lauge bringen die Färbung wieder hervor, sie verschwindet aber wieder; der Vorgang wiederholt sich, so oft man wieder einige Tropfen NaOH zufließen läßt. Solange die freien Fettsäuren nicht neutralisiert sind, verschwindet die durch die NaOH hervorgebrachte Rötung sofort wieder; sobald aber eine Neutralisation zustande gekommen ist, verschwindet die Färbung erst nach einiger Zeit wieder und diesen Punkt habe ich als die Endreaktion bezeichnet.

Nach diesen Auseinandersetzungen könnte man mir vielleicht den Vorwurf machen, warum ich denn diese Methode benutzte, wenn sie doch eine Anwendung für die Beurteilung der Ranzigkeit einer Butter nicht zuläßt. Demgegenüber habe ich jedoch einzuwenden, daß die Veränderungen einer Butter sich in erster Linie durch die entstandenen Fettsäuren kundgeben, und gerade dadurch war es mir möglich, die verschiedenen Proben zu vergleichen. Um den Grad der Ranzigkeit einer Butter zu ermitteln, besitzen wir bis heute ein chemisches Reagens nicht; man ist in diesem Falle ausschließlich auf das Geruchsorgan angewiesen. (Fortsetzung folgt.)

Die Bedeutung der Milchsäurefermente für die Bildung von Eiweisszersetzungsprodukten in Emmenthalerkäsen, nebst einigen Bemerkungen über die Reifungsvorgänge.

Von **Ed. v. Freudenreich** und **Orla Jensen.**

(Schluß.)

Die Zahlen in Tabelle B^{IIa} und Tabelle B^{IIb} zeigen im vorliegenden Falle Unterschiede, die nicht größer sind als diejenigen, die man erhält, wenn man verschiedene Proben des gleichen Käsepulvers bei gleicher Temperatur extrahiert. Die Stickstoffumrechnungen in der später folgenden Tabelle C^{II} sind auf Grund von Tabelle B^{IIb} ausgeführt worden.

Wie bereits erwähnt, haben die Käse in der Zeit von der ersten bis zu der zweiten Untersuchung nicht mehr große Fortschritte gemacht. Der Bestandteil, der sich im kühlen Keller relativ am stärksten vermehrt hat, ist das Ammoniak.

Betrachten wir jetzt die einzelnen Käse unter sich, so kommen wir zu Resultaten, die mit unseren früheren Befunden vollständig übereinstimmen. Der nicht geimpfte Käse 1 und der mit Tyrothrix tenuis geimpften Käse 2 enthalten weniger Amidstickstoff als die übrigen mit Milchsäurefermenten geimpften Käse und dieses, trotzdem, wie die bakteriologische Untersuchung zeigte, es nicht gelungen war, in ersteren die Entwickelung von Milchsäurefermenten ganz zu verhindern. Unter den mit Milchsäurefermenten geimpften Käsen enthalten ferner die mit Laboratoriumskulturen geimpften Käse 3, 4 und 5 weniger Amidstickstoff als die mit Naturlab hergestellten Käse 6 und 7. Wir dürfen hieraus schließen, daß, wie in anderen Gärungsindustrieen, auch hier für das Gelingen der Gärung nicht bloß die Gegenwart der richtigen Gärungserreger erforderlich ist, sondern daß dieselben sich auch in einem besonderen, dem praktischen Betriebe angepaßten Zustande befinden müssen. Daher kommt es, daß selbst sehr lebensfähige Laboratoriumskulturen oder Kulturen, welche in kleineren Gefäßen gezüchtet werden, gewöhnlich erst nach mehrmaligem Umzüchten unter den natürlichen Verhältnissen im Großbetrieb für letzteren verwendbar werden. Die in Käse 1 und 2 hineingelangten Milchsäurefermente gehörten vielleicht nicht zu den richtigen Varietäten oder waren nicht so lebenskräftig wie die gut entwickelten Laboratoriumskulturen, und diese wiederum waren vielleicht für die Käsefabrikation weniger geeignet als das Naturlab, welches nach unseren früheren, bereits citierten Untersuchungen gerade als eine der Emmenthalerkäsefabrikation angepaßte Kultur von Milchsäurefermenten, insbesondere von Bacillus ε, erscheint und deshalb, wie es aus der Arbeit, die der Eine von uns mit Steinegger publiziert hat[1]), hervorgeht, durch eine unter ähnlichen Bedingungen gewachsene Kultur von Bacillus ε ersetzt werden kann.

---

1) v. Freudenreich, Ed. und Steinegger, R., Ueber die Verwendung von Kunstlabpräparaten bei der Käsefabrikation. (Dies. Centralbl. II. Abt. Bd. V. p. 14.)

Eine fernere Uebereinstimmung zwischen den Resultaten dieser Versuchsreihe und den kleinen Versuchskäsen liegt darin, daß auch hier unter den Käsen aus pasteurisierter Milch die größte Menge löslichen Stickstoffes bei dem ungeimpften Kontrollkäse 1 zu finden ist.

Ein Blick auf die Zahlen, welche der Amidstickstoff in Prozenten des gesamten löslichen Stickstoffes wiedergeben, zeigt uns, daß diese Käse in 4 Gruppen eingeteilt werden können.

	Amidstickstoff in Proz. des gesamten löslichen Stickstoffes im Mittel
I. Käse 1, nicht geimpft	11 Proz.
II. Käse 2, mit Tyrothrix geimpft	20 „
III. Käse 3, 4 und 5, mit Laboratoriumskulturen v. Milchsäurefermenten geimpft	29 „
IV. Käse 6 und 7, mit Naturlab geimpft	39 „

Käse 5, welcher gleichzeitig mit Milchsäurefermenten und Tyrothrix tenuis geimpft worden war, verhält sich ganz gleich wie die Käse, welche nur Milchsäurefermente erhalten hatten. Dieses erklärt sich daraus, daß die Konkurrenz der Milchsäurefermente das Aufkommen der Tyrothrix verhindert.

Eine Sonderstellung in dieser Versuchsreihe nimmt Käse 7 ein, weil er nicht, wie die anderen Käse, aus pasteurisierter Milch gemacht ist, sondern ein in jeder Beziehung normaler und sehr feiner Käse ist.

Wie bereits erwähnt, waren alle die aus pasteurisierter Milch hergestellten Käse mehr oder weniger bröckelig und ohne deutliche Lochung. Die chemische Untersuchung zeigt uns jetzt, daß keiner dieser Käse, selbst nicht Käse 6, bei dem auch Naturlab verwendet wurde, in so hohem Maße nach jeder Richtung gereift ist, wie Käse 7. Es bestätigt dieses unsere Aeußerung, daß eine 20 Minuten andauernde Pasteurisierung der Milch bei 68—70° für die Fabrikation von Emmenthalerkäsen sich nicht eignet.

Die zwei nachstehenden Tabellen C I und C II, in welchen die mehr zufälligen Beimischungen, nämlich Wasser, Fett und Kochsalz, eliminiert sind, zeigen uns das Verhältnis zwischen den übrigen Bestandteilen. Auf Grund der folgenden Tabellen wollen wir einige dieser Verhältnisse noch deutlicher machen (s. Tab. p. 142).

Tabelle D zeigt uns, daß durchschnittlich mehr als die Hälfte der kochsalzfreien Asche sich in löslichem Zustande befindet, doch immer um so weniger, je reifer die Käse sind. So hat Käse 7 weniger lösliche Asche als die anderen Käse, und die gleichen Käse zeigen bei der zweiten Untersuchung weniger lösliche Asche als bei der ersten (Käse 7 bildet doch hierin eine Ausnahme, vielleicht weil er schon das erste Mal relativ wenig lösliche Asche hatte). Bei der zweiten Untersuchung wurden zwar die Käseextrakte bei bloßer Zimmertemperatur hergestellt, währenddem bei der ersten Untersuchung die Extraktion zunächst 2 Stunden lang bei einer Temperatur von 50° vorgenommen wurde. Dieser Unterschied in der Arbeitsmethode übt jedoch, wie wir uns überzeugt haben, gar keinen Einfluß auf die Menge der löslichen Asche aus. Die Verminderung der löslichen Asche während der Reifung rührt sowohl davon her, daß

Tabelle C I.

Auf 100 Teile der kochsalz- und fettfreien Trockensubstanz entfallen:	1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.
Gesamtstickstoff	13,39	13,44	13,23	13,40	13,53	13,08	13,03
Stickstoff der unlösl. Proteïnstoffe	10,32	10,53	10,82	10,79	11,29	10,29	9,16
Gesamter löslicher Stickstoff	3,07	2,91	2,41	2,61	2,24	2,79	3,87
Stickstoff d. löslichen Proteïnstoffe	2,72	2,27	1,77	1,77	1,55	1,63	2,31
Amidstickstoff	0,34	0,55	0,61	0,79	0,66	1,12	1,46
Ammoniakstickstoff	0,01	0,09	0,03	0,05	0,03	0,04	0,10
Gesamtmenge der stickstoffhaltigen Substanzen	90,51	90,13	90,84	90,61	90,33	90,52	89,99
Gesamtasche	9,49	9,87	9,16	9,39	9,67	9,48	10,01
Unlösliche Bestandteile:							
Proteïnstoffe	66,30	66,76	70,49	67,64	71,31	68,31	58,57
Asche	3,75	4,90	3,90	3,70	4,01	4,56	5,42
Lösliche Bestandteile:							
Stickstoffhaltige Substanzen	24,21	23,37	20,35	22,97	19,02	22,21	31,42
Proteïnstoffe	17,79	14,87	11,57	11,61	10,16	10,70	15,14
Eiweißzersetzungsprodukte	6,41	8,38	8,74	11,30	8,82	11,46	16,15
Ammoniak	0,01	0,12	0,04	0,06	0,04	0,05	0,13
Asche	5,74	4,97	5,26	5,69	5,66	4,92	4,59

Tabelle C II.

Auf 100 Teile der kochsalz- und fettfreien Trockensubstanz entfallen:	1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.
Gesamtstickstoff	13,28	13,21	13,05	13,04	13,17	12,78	12,77
Stickstoff der unlösl. Proteïnstoffe	9,97	10,35	10,17	10,40	10,66	9,76	8,53
Gesamter löslicher Stickstoff	3,31	2,86	2,88	2,64	2,51	3,02	4,24
Stickstoff der löslichen Proteïnstoffe	2,87	2,17	1,98	1,74	1,70	1,73	2,48
Amidstickstoff	0,38	0,60	0,77	0,81	0,71	1,18	1,60
Ammoniakstickstoff	0,06	0,09	0,13	0,09	0,10	0,11	0,16
Gesamtmenge der stickstoffhaltigen Substanzen	90,21	89,68	90,53	90,21	90,27	90,21	89,22
Gesamtasche	9,79	10,32	9,47	9,79	9,73	9,79	10,78
Unlösliche Bestandteile:							
Proteïnstoffe	64,63	66,73	66,59	67,42	68,65	65,78	55,37
Asche	4,45	5,44	4,10	4,73	4,31	4,89	5,78
Lösliche Bestandteile:							
Stickstoffhaltige Substanzen	25,58	22,95	23,94	22,79	21,62	24,43	33,85
Proteïnstoffe	18,82	14,25	12,94	11,40	11,13	11,31	16,24
Eiweißzersetzungsprodukte	6,68	8,58	10,83	11,27	10,36	12,98	17,40
Ammoniak	0,08	0,12	0,17	0,12	0,13	0,14	0,21
Asche	5,34	4,88	5,37	5,06	5,42	4,90	5,00

Tabelle D.

Von 100 Teilen der kochsalzfreien Asche sind in Lösung übergegangen:	1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.
I. nach 2 Monaten	60,51	50,36	57,40	60,60	58,47	51,93	45,88
II. nach 4 Monaten	54,51	47,24	56,71	51,64	55,74	50,08	46,41

ein Teil dieser Asche durch die Bildung basischer Eiweißzersetzungsprodukte unlöslich gemacht wird, als auch daher, daß ein Teil derselben gleichzeitig mit dem Eindringen des Kochsalzes hinaus diffundiert und später an der Oberfläche weggewaschen oder weggeschabt wird, ganz wie es Beneke und Schulze auf andere Weise gezeigt haben [1]).

Da gereifte Käse eine größere Menge löslicher sticksstoffhaltiger Substanzen als löslicher Aschebestandteile enthalten, so müssen, wenn letztere durch Diffusionsprozesse einen Stoffverlust erleiden, erstere um so eher auch abnehmen. Daß dieses wirklich der Fall ist, geht deutlich aus Tabelle E hervor:

Tabelle E.

100 Teilen stickstoffhaltiger Substanzen entsprechen Ascheteile:	1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.
I. Nach 2 Monaten	10,49	10,95	10,08	10,37	10,70	10,46	11,12
II. „ 4 „	10,86	11,51	10,46	10,85	10,78	10,85	12,08

Ueberall sehen wir, daß das Verhältnis zwischen kochsalzfreier Asche und stickstoffhaltigen Substanzen gestiegen ist. Letztere haben also einen noch größeren Verlust erlitten als die Asche, und da dieser Verlust hauptsächlich auf Kosten der Eiweißzersetzungsprodukte gerechnet werden muß, weil diese leichter diffundierbar sind als die löslichen Proteïnstoffe, so erscheint die Vermehrung der Eiweißzersetzungsprodukte nicht so groß als sie es in Wirklichkeit ist. Uebereinstimmend mit der Abnahme der stickstoffhaltigen Substanzen hat man für den Gesamtstickstoff kleinere Zahlen in der Tabelle C^{II} als in Tabelle C^{I}. Aus diesen Tabellen ersehen wir auch, daß für Käse 2 und 4 der zwischen den beiden Untersuchungen eingetretene Verlust an löslichen stickstoffhaltigen Substanzen größer gewesen ist, als die durch die Reifung herbeigeführte Zunahme derselben.

Da die stickstoffhaltigen Substanzen unserer Käse in der Zeit zwischen den beiden Untersuchungen einen Verlust erlitten haben, so sollte man meinen, daß die Fettmenge im Verhältnis zu diesen Substanzen in demselben Zeitraume gestiegen wäre; die nachfolgende Tabelle F scheint jedoch zu beweisen, daß das Gegenteil ebenso oft der Fall war.

Tabelle F.

100 Teile stickstoffhaltiger Substanzen entsprechen Fettteilen:	1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.
I. Nach 2 Monaten	121,7	124,8	110,0	111,4	121,3	102,9	128,0
II. „ 4 „	122,0	124,5	109,2	113,7	122,6	101,7	127,4

Die kleinen Schwankungen in den Zahlen dieser Tabelle können wohl zum Teil von Versuchsfehlern herrühren, besonders wenn man bedenkt, daß die Menge der stickstoffhaltigen Substanzen nur als Differenz zwischen 100 und der Summe aller anderen Käsebestand-

1) Zu diesem Resultate kamen Beneke und Schulze (l. c.), indem sie zeigten, daß die Aschenbestandteile sich nicht gleichmäßig auf Rinde und Inneres verteilen.

teile ermittelt werden kann. Sie können aber auch von einer wirklichen Abnahme oder Zunahme des Aetherextraktes herrühren: einer Abnahme, falls Glycerin bei einer Zersetzung der Fettstoffe gebildet würde[1]), und einer Zunahme im Falle der Bildung von Fettsäuren auf Kosten der stickstoffhaltigen Substanzen.

Daß der Aetherextrakt eines gereiften Käses immer sauer reagiert, steht fest, ob aber die freien Fettsäuren von den Fettstoffen oder den stickstoffhaltigen Substanzen herrühren, ist für alle Käsesorten noch nicht genügend aufgeklärt[2]).

Was speziell Emmenthalerkäse betrifft, hat Weidmann[3]) gefunden, daß der Petrolätherextrakt fast keine freien Fettsäuren enthält; dieses schließt jedoch eine schwache Zersetzung der Fettstoffe nicht aus, weil eine geringe Menge Fettsäuren an Ammoniak und an andere alkalische Bestandteile des Käses gebunden sein könnte. Als Beweis einer Zersetzung des Fettstoffes könnte der Nachweis von freiem Glycerin im Käse gelten. Diesen Nachweis suchten wir nun für die 7 großen Versuchskäse auf folgende Weise zu leisten: Etwa 10 g des Käsepulvers wurden vollständig entfettet und mit heißem absoluten Alkohol extrahiert. Im Wasserbad läßt man den Alkohol, ohne ihn zum Kochen zu bringen, verdunsten, den Rückstand löst man in Wasser auf, wobei eine braune, schleimige, aufquellende Masse zurückbleibt, die selbst nach Erwärmen an der Schale klebt, kühlt gut ab, um etwaige Spuren von Fett zum Erstarren zu bringen und filtriert. Das klare Filtrat wird dann in einem Uhrglase im Wasserbade eingeengt, wodurch man nebst einer weißen Kruste noch eine geringe Menge öliger Tropfen bekommt, welche in Aether unlöslich sind, auf Papier einen dauernden Fettflecken hervorbringen und, mit $KHSO_4$ erhitzt, Akroleïnreaktion geben. Die Tropfen sind also ohne Zweifel Glycerin. Die Tropfen reagieren stark sauer und zwar wegen des Vorhandenseins von Phosphorsäure. Sie rühren daher wahrscheinlich von Glycerinphosphorsäure her, welche bekanntlich durch Einengen in ihre zwei Komponenten gespalten wird.

Daß wirklich Spuren von Glycerinphosphorsäure im Käse vorhanden sind, wird dadurch wahrscheinlich gemacht, daß die schon erwähnte schleimige Masse sich als unreines Lecithin identifizieren ließ, teils durch das mikroskopische Bild, teils dadurch, daß sie sich fast ganz in Aetheralkohol lösen ließ und nach Filtrieren, Eindampfen und Schmelzen mit Soda und Salpeter Phosphorsäurereaktion gab.

In dem alten Käse 8 scheint bedeutend weniger Lecithin und mehr Glycerinphosphorsäure gewesen zu sein als in den jüngeren Käsen. Die Menge des Lecithins in den entfetteten Käsepulvern genau zu bestimmen, wurde jedoch nicht versucht, weil man an-

---

1) Die Fettbestimmungen sind nach der Salzsäuremethode von Bondzynski ausgeführt worden; ein Verlust an Fettsäuren durch Verbindung mit Ammoniak war daher ausgeschlossen.

2) Vergl. Weigmann, H., und Backe, A., Ueber die Frage der Zersetzung des Milchfettes bei der Käsereifung. (Die landwirtschaftlichen Versuchsstationen. Bd. LI), und Kirsten, A., Untersuchungen über die Veränderungen des Milchfettes beim Reifen der Käse. (Milchzeitung. 1899. No. 4)

3) Landwirtschaftl. Jahrbücher. Bd. XI. p. 587.

nehmen muß, daß schon die Hauptmenge dieses Stoffes in den Aetherextrakt übergegangen ist. Was die Frage der Zersetzung der Fettstoffe im Käse während der Reifung betrifft, so geben unsere Untersuchungen keine Auskunft darüber, dagegen stellen sie, soweit uns bekannt ist, zum ersten Male die Gegenwart von Lecithin und Spuren von Glycerinphosphorsäure im Käse fest. Da Lecithin sowohl in Milch als in Butter nachgewiesen worden, ist es ja auch natürlich, daß es in jedem Fettkäse vorkommen muß und hier mit der Zeit in Glycerinphosphorsäure, Cholin und höhere Fettsäuren zersetzt wird.

Die nachfolgende Tabelle G zeigt den Stickstoffgehalt der Eiweißzersetzungsprodukte:

Tabelle G.

100 Teile Eiweißzersetzungsprodukte enthalten Proz. Stickstoff:								
	1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.
I. Nach 2 Monaten	5,25	6,53	6,99	7,01	7,46	9,78	9,02	11,33
II. „ 4 „	5,63	6,88	7,15	7,22	6,83	9,07	9,19	

Wir sehen, daß die Eiweißzersetzungsprodukte für den gleichen Käse bei den beiden Untersuchungen nahezu dieselbe Stickstoffmenge enthalten, soweit dieses überhaupt nach der Rechnungsmethode möglich ist.

Bondzynski hat gefunden, daß die Eiweißzersetzungsprodukte in vollreifen Emmenthalerkäsen durchschnittlich 12—13 Proz. Stickstoff enthalten, er hat aber nicht, wie wir, das Ammoniak für sich bestimmt; wenn man bei unserem Käse 8 den Stickstoff der ammoniakhaltigen Eiweißzersetzungsprodukte berechnet, so bekommt man 12,33 Proz., also ganz wie Bondzynski. Die Zersetzungsprodukte in den jüngeren Käsen scheinen dagegen einen bedeutend niedrigeren Stickstoffgehalt zu haben, und zwar einen um so kleineren, je weniger gereift der Käse ist. Dieses Verhältnis rührt ohne Zweifel zum Teile von der Weise her, auf welche man die Eiweißzersetzungsprodukte berechnet. Diese werden nämlich als Differenz zwischen dem Gesamtextrakt und der Summe der löslichen Asche, der löslichen Proteïnstoffe (d. h. deren Stickstoff mit 6,55 multipliziert) und des Ammoniaks ermittelt; wenn dann der Extrakt noch stickstofffreie Bestandteile enthält, werden diese ohne weiteres als Eiweißzersetzungsprodukte berechnet, und wenn wir annehmen, daß alle unsere Käse annähernd ebensoviel stickstofffreie organische Extraktivstoffe enthalten, so ist es klar, daß der Fehler um so größeren Einfluß auf den Stickstoffgehalt der Eiweißzersetzungsprodukte ausüben muß, je kleiner die Menge der letzteren ist. Daß der Käseextrakt stickstofffreie organische Substanzen enthält, ist sicher, wir haben schon eine geringe Menge Glycerinphosphorsäure nachgewiesen, auch ist es natürlich anzunehmen, daß die basischen Bestandteile des Käseextraktes, da derselbe immer schwach sauer reagiert, an organische Säuren, wie Milchsäure und Buttersäure gebunden sind, und endlich wird man nicht vermeiden können, daß auch gewisse Mengen Fett in den Käseextrakt übergehen. Die verschiedenen Käseanalysen werden nämlich in einem nur zum Teil entfetteten Käsepulver gemacht, da eine vollständige Entfettung größerer Käsemengen sehr umständlich ist; dieses

Käsepulver enthält daher auf die kochsalzfreie Trockensubstanz noch ca. 3 Proz. Fett, wovon höchst wahrscheinlich ein Teil durch das Filter geht.

Die letzte Tabelle H zeigt den Stickstoffgehalt der unlöslichen aschefreien Proteïnkörper unserer Käse.

Tabelle H.

100 Teile der unlöslichen aschefreien Proteïnkörper enthalten Proz. Stickstoff:	1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.
I. Nach 2 Monaten	15,57	15,77	15,35	15,95	15,83	15,06	15,64
II. „ 4 „	15,43	15,51	15,27	15,43	15,53	14,84	15,41

Ueber die kleinen Schwankungen der Zahlen dieser Tabelle darf man sich nicht verwundern, wenn man bedenkt, daß sowohl die Proteïnkörper selbst als auch deren Stickstoff nur als Differenz ermittelt werden können. Dazu kommt, daß sie vielleicht größere oder kleinere Mengen fremder Stoffe enthalten, deren Extraktion nicht gelungen ist. Ausschließlich aus aschefreiem Paracaseïn, wie gewöhnlich angenommen wird, können sie nicht bestehen, denn in diesem Falle müßten sie etwa 16,4 Proz. N enthalten[1]). Die unlöslichen Eiweißkörper der Käse scheinen vielmehr, bevor sie als Caseoglutin (15,29 Proz. N) in eine lösliche Form übergehen, ziemlich tiefen Umbildungen unterworfen zu sein, wofür die Beobachtungen des Einen von uns sprechen, daß sie fast nur halb so viel Nukleïn als Paracaseïn enthalten[2]).

Aus den vorhergehenden Untersuchungen glauben wir schließen zu können[3]):

1) Bei der Reifung des Emmenthalerkäses spielen die sogenannten Tyrothrixbacillen keine Rolle. Im normalen Käse vermehren sie sich nicht, und selbst in großer Zahl dem Käse zugesetzt, haben sie auf die Bildung von Zersetzungsprodukten keinen Einfluß. Ueberhaupt scheinen sie auf den Geschmack des Käses nur schädlichen Einfluß auszuüben.

2) Den Hauptanteil an der Reifung nehmen die im Emmenthalerkäse sich stark vermehrenden Milchsäurefermente, welche befähigt sind, im Käse das Caseïn löslich zu machen und daraus die die Reifung charakterisierenden Zersetzungsprodukte zu bilden.

3) Nicht unwahrscheinlich ist es, daß die von Babcock und Russell entdeckten natürlichen Milchenzyme sich an der Reifung

1) Hammarsten giebt an, daß Caseïn 15,65 Proz. N enthalte und Paracaseïn noch mehr. Diese Stoffe enthalten jedoch Schwefel und Phosphor, welche wohl zum größten Teile, wenn der Käse eingeäschert wird, in Form von Säuren an die basischen Bestandteile der Käseasche gebunden bleiben. Berechnen wir also den Stickstoffgehalt des Paracaseïns auf dieselbe Weise wie für die unlöslichen, aschefreien Proteïnkörper, so müssen wir Schwefel und Phosphor als Säureanhydrid abziehen.

2) Orla Jensen, Nyt Tidsskrift for Fysik og Kemi. 1897. Heft 2.

3) Als diese Arbeit bereits gedruckt war, kam uns die Arbeit von Adametz in No. 8 und 9 der österreichischen Molkereizeitung zu Gesicht. In derselben verteidigt Adametz die Ansicht, daß auch bei Hartkäsen wie bei Weichkäsen die Reifung von außen nach innen erfolge. Mit den eben mitgeteilten Resultaten unserer Versuche scheint freilich diese Hypothese kaum vereinbar zu sein. Bei anderer Gelegenheit kommen wir darauf zurück.

beteiligen, indem sie durch Löslichmachen des Caseïns den Milchsäurefermenten ihr Werk erleichtern.

4) Das Pasteurisieren der Milch, sofern letztere zu Emmenthalerkäse verarbeitet werden soll, giebt schlechte Resultate hinsichtlich der Qualität der Käse. In der Praxis ist es daher zu solchem Zwecke nicht verwendbar.

5) Endlich haben wir bestätigen können, daß während der Reifung ein Verlust an löslichen Käsebestandteilen stattfindet, und als neue Stoffe haben wir im Käse Lecithin und Spuren von Glycerinphosphorsäure nachgewiesen.

Cytodites nudus in the common fowl.

By **E. V. Wilcox**, Ph. D.,
U. S. Department of Agriculture, Washington, D. C.

With 9 figures.

There is probably only one species of mite which lives normally in the body cavity and other internal cavities of the common fowl and that is Cytodites nudus. This sarcoptic mite has been studied by various entomologists and veterinarians in Europe and in the United States.

The systematic position of the mite has been tolerably well established and the different developmental stages are fairly well known. There has thus far, however, been no substantial agreement on the effects of the presence of Cytodites in the body cavity of poultry or on the method of transmission of the mite from one fowl to another. Cytodites has been found in a considerable number of the gallinaceous birds. It has been found generally on the peritoneum, along the mesenteries, in the lungs, air-sacs and hollow bones; and one observer, Edgar, reports its presence in the ventricles of the heart. Its presence has been suspected even in the liver.

Now as to the pathogenic effects of this mite there is, as has been indicated, a great variety of opinion. A number of observers who have worked upon this parasite have held the belief that in one way or another the presence of the mite in fowls produces decided pathological processes. Conclusive evidence on this point has usually been wanting in the writings on the subject.

Edgar made post mortem examinations on fowls which died with puzzling symptoms and found an acute endocarditis with numerous specimens of Cytodites in the ventricles of the heart. We say Cytodites, although Edgar did not know what the mite was which he found. We should judge from his drawings that it must have been Cytodites. Some workers have reported that the mite multiplies at times to such an extent in the bronchial tubes as to obstruct breathing and cause death in that manner. The mite has been said to cause a pneumonic condition in the lungs by its presence there.

When present in large numbers on the peritoneum, Cytodites has been suspected of producing peritonitis and enteritis. It may readily be seen from these observations that no constant set of symptoms attend the infection of fowls by Cytodites.

One of the most difficult problems in connection with the study of this mite concerns the manner of its introduction into the body of the fowl and of its ultimate distribution in various cavities of the body. Three methods of entrance into the fowl have been suggested as possible, into the oesophagus, into the trachea, and through the body wall. The last named method would seem improbable if one takes into consideration the anatomy of the mite. It would seem almost impossible for Cytodites to penetrate firm tissue of any considerable thickness. As is well known, there are no hooked claws on the legs, or bristles adapted to assist the mite in forcing a passage through tissue. We have to consider, however, the indisputable fact that the mite has been found in situations which render it necessary to suppose that it has penetrated membranes or tissues of greater or less thickness in order to reach such situations.

If we take for brief consideration the situation of the mite upon the peritoneum, it is evident that it must have passed through tissue to be found in such location, for the body cavity is a completely closed space with the one exception of the opening through the oviduct in the case of the female. But we doubt if any one seriously believes that Cytodites reaches the body cavity through the oviduct.

It has been generally believed that Cytodites is taken up by the fowls in their food and that some specimens of the mite find their way into the larynx. They could then easily pass down the trachea, through the lungs into the air-sacs from which, by penetrating a thin membrane, they could make their way into the body cavity. This view of the case is supported by the frequent occurrence of the mite in the trachea, bronchi, lungs, and air-sacs. Indeed, Cytodites is sometimes called the air-sac mite from its abundant occurence in the air-sacs.

If the mite is carried along into the alimentary tract with the food, its ability to penetrate the walls of either the stomach or intestines must remain a very questionable matter.

As to the pathological effects of the presence of Cytodites in fowls, few conclusive observations have been made. Gerlach believed that the mite caused enteritis of fowls. Holzendorff found yellow nodules in lungs, liver, and kidneys of fowls and these nodules contained Cytodites. Mégnin observed at least one case in which the bronchial passages were obstructed by innumerable Cytodites and death resulted by asphyxia. Zundel believed that the mite caused peritonitis. Edgar found the mite in the ventricles of the heart where it caused death by acute endocarditis. Williams believed that the mites cause disease and death, but gives no evidence for his belief.

My own observations on Cytodites have not led me to definite conclusions with regard to these doubtful points, but have made me rather skeptical of the economic importance of the mite. In

Montana, where I first studied the mite, I found it a rare species. Williams claimed that it was one of the most common and important enemies of poultry. By virtue of persistent search and with the aid of several poultry raisers, I succeeded in finding a few hens which were infested with Cytodites. Quite accidentally I found a large number of the mite in perfectly healthy fowls. In two hens which were bought for food, I found thousands of Cytodites. The hens were fat and in excellent condition, although the mesenteries about the stomach and liver were simply covered with white masses of crawling Cytodites.

It should be stated also in connection with these two cases that there was not the slightest evidence of any pathological condition. The liver was not enlarged and there was no pneumonia, enteritis, or peritonitis. Since the mites were present in such immense numbers, I was forced to conclude that they had been in the body cavity for a long time, probably some months.

During my study of the subject I killed and examined about 150 fowls which were evidently diseased and which in general manifested symptoms similar to those which Williams maintained were characteristic of infestation by Cytodites. Only five out of this number were found to be infested with the mite, and every one of these five exhibited pathological conditions which could not be in any sense connected directly with Cytodites, but which were quite sufficient to account for the diseased state of the fowls. One hen was infested with an unusually large number of intestinal nematodes, and the others had a combination of cholera and cestodes. In one case the presence of tape-worms in the intestine had caused the development of nodules in the walls of the intestine. These nodules varied greatly in size, one of the larger ones being shown in natural size in Fig. 4. There were also a number of nodules in the liver and spleen which may have been of tubercular or pseudo-tubercular origin, but of which Cytodites could hardly have been the primary cause. The mite was found crawling upon these nodules as also upon other parts of the intestine and mesenteries, but it had not penetrated into them and seemed to be in no way related to their development. From our own observations, therefore, we believe that we are justified in concluding that the presence of Cytodites, even in large numbers in the peritoneal cavity of fowls, does not necessarily bring about a diseased condition.

In coming, however, to the conclusion which we have just indicated, we do not wish to be understood as attempting to discredit the work of Holzendorff, Taylor, and Edgar, who report having found the mite imbedded in tissue or inside of vital organs. If Cytodites was actually found inside of nodules in the liver, it is safe to say that the mite was the primary or secondary cause of the nodules and was, therefore, in so far the cause of a diseased condition. If Edgar's observations were correct, and there seems to be no good reason for doubting them, the mites were certainly the cause of death in the cases which he studied. Moreover, if we admit the accuracy of these observations, we must also admit the ability of the mite to penetrate through firm tissue. Just how the

mite could maintain its position inside the chambers of the heart is difficult to understand. We should naturally suppose that in case the mites could gain entrance to the heart, they would be quickly carried out in the blood current and pass along in the blood vessels until they came to the smaller arteries where they would obstruct the flow of the blood.

In connection with the infestation of fowls by Cytodites we wish to make a suggestion which may perhaps be of value. It seems to us quite possible that the mite, while not the cause of a specific disease, may be instrumental in carrying pathogenic organisms from fowl to fowl and may thus assist in the distribution of contagious diseases in a similar manner to that which has been shown to be true of many insects and related arthropods. The mites when present in large numbers in the respiratory tract must cause considerable irritation and coughing.

They would thus be thrown out upon the ground and might then be taken up in the food of other fowls. In our experience, they had a weak power of resisting desiccation, but in moist surrounding they can live at least four days outside the body of fowls. I have kept them alive for two days in a normal salt solution.

The mites remain alive in the body of a dead fowl for at least twenty four hours. There is, it seems to us, abundant opportunity for the mites to be transmitted from fowl to fowl by way of the mouth even if they can not live longer outside the body or in a dead body than our experiments would indicate. We feel justified, therefore, in believing that Cytodites which come from fowls infected with roup, leukaemia, or cholera may become the carriers of these diseases.

There seems, however, little reason to suppose that Cytodites is the direct cause of a specific disease, and we believe, therefore, that except as possible carriers of contagious diseases, the mite is not of great economic importance.

As to the distribution of Cytodites, we must conclude from the observations already made that it is a general one. The mite has been found in Italy, France, Germany, England, and various parts of the United States. It presents interesting problems for study to the biologist, but is of little economic importance.

The systematic position of Cytodites has been so thoroughly discussed and its anatomical characters have been so well described that I shall pass over these points with brief remarks. Figs. 1, 2, and 3 show the chief external features of the male and female mites.

It seems difficult to understand how a mite so poorly armed can penetrate animal tissues. An enlarged view of a terminal sucker is shown in Fig. 7 in an extended condition and in Fig. 8 in the retracted condition. The mite is exceedingly active notwithstanding its clumsy appearance. It finds no difficulty in maintaining its position in ordinary situations, but we can scarcely conceive how it could have prevented being dashed out of the heart chambers in the cases described by Edgar. It is a difficult matter to kill the mites with the suckers extended. We experimented with several stupifying reagents and had best results from a use of chloral hydrate. The

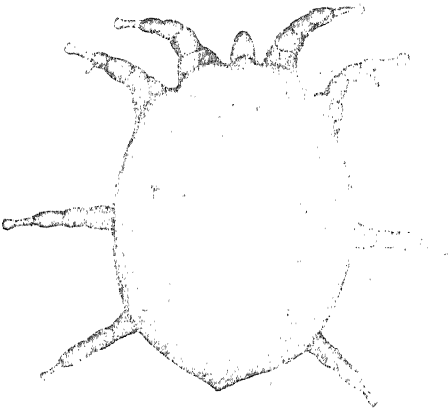


Fig. 1.



Fig. 2.



Fig. 3.



Fig. 4.

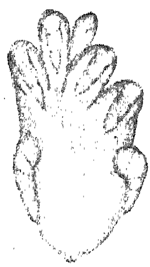


Fig. 5.

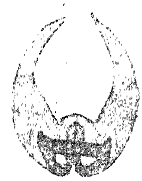


Fig. 6.



Fig. 7.

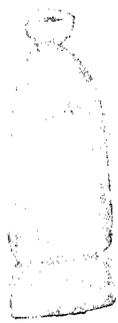


Fig. 8.



Fig. 9.

six-legged immature forms (Fig. 5) are easily seen in the bodies of the viviparous females and are capable of considerable movement after being dissected out.

A study of the beak (Fig. 9) does not indicate that it is particularly well adapted for piercing. The males and females are readily distinguished by the greater size of the latter and also by the peculiar genital armature of the male, shown in enlarged view in Fig. 6.

Literature on Cytodites nudus.

Berlese, A., Acar. Myr. Scor. 1879. Fasc. 84. No. 7.

Canestrini, G., Pros. Acar. Vol. V. 1893. p. 566.

Edgar, W. A., A new (?) parasitic disease. (Veterinarian. Vol. LIX. 1886. p. 409. 410. 3 figs.)

Gerlach, Einige neue Parasiten bei den Haustieren. (Mag. f. die ges. Tierheilk. Bd. XXV. 1859. No. 1. p. 232—255. Mit 1 Taf.)

Holzendorff, Arch. wiss. u. prakt. Tierheilk. 1885. p. 304.

Mégnin, P., Les acariens parasites du tissu cellulaire et des reservoires aériens chez les oiseaux. (Journ. d'Anat. et Physiol. T. XV. 1879. p. 123—153. Pls. 2.)

— —, Memoire presenté à la réunion des Sociétés savantes à la Sarbonne. 1876.

— —, Monographie de la tribu des Sarcoptides psoriques etc. (Rev. et Mag. de Zool. 1887.)

— —, Les parasites et les maladies parasitaires chez l'homme et les animaux domestiques etc. Paris 1880.

Neumann, L. G., Treatise on the parasites and parasitic diseases of the domesticated animals. Trans. by G. Fleming. London 1892.

Osborn, H., Insects affecting domestic animals. (U. S. Dep. Agr., Division of Entomology. Bull. V. N. S.)

Paulicki, Milben in den Luftsäcken einer Goldfasanhenne. (Wien. med. Wochenschr. Bd. XIX. 1869. p. 993.)

Perroncito, Parassiti. p. 429.

Piana, G. P., Ricerche sopra una epizoozia dei gallinacei osservata nella Provincia di Bologna. (Gaz. med. vet. Naples. Vol. VI. 1876. No. 3 e 4. pp. 257—282. pls. 2.)

Railliet, A., Traité de zoologie médicale. Paris 1895.

Riley, C. V., Amer. Nat. Vol. XVII. 1883. p. 422. 423.

Rivolta, S. and Delprato, P., L'Ornitojatria o la medicina degli uccelli domestici e semidomestici. Pisa 1879. pp. 508. pls 4.

Taylor, T., Internal parasites in the common fowl. (Proc. Amer. Soc. Microsc. 1883. p. 131—133. With 2 figs.)

— —, Intestinal parasites in domestic fowls. (Sci. Amer. Vol. XLIX. 1883. p. 212.)

— —, Sci. Amer. Suppl. Vol. XVIII. 1884. p. 7414.

Vizioli, F., Osservazioni microcopische sopra alcuni noduli sottocutanei dei polli e descrizione di un nuovo genere di acaridei parassita degli uccelli. (Gior. anat. fisiol. patol. animali. T. I. 1869. p. 257—271. pl. 1.)

Wilcox, E. V., The internal chicken mite (Cytodites nudus). (Journ. Comp. Med. and Vet. Arch. Vol. XIX. 1898. No. 8. pp. 523—526.)

Williams, W. L., Amer. Vet. Rev. 1898. April.

Zundel, A., La Phthiriase interne. (Journ. méd. vét. Lyon. T. XX. 1864. p. 565—573.)

Zürn, Die Krankheiten des Hausgeflügels. Weimar 1882.

Zschokke, E., Schweizer Arch. f. Tierheilk. Bd. XXVI. 1884. No. 1. p. 20—25. Mit 3 Fig.

Explanation of the figures.

Fig. 1. Female, dorsal view.
Fig. 2. Female, ventral view.
Fig. 3. Male, ventral view.
Fig. 4. Portion of small intestine of a hen with a nodule on one side.
Fig. 5. Immature 6-legged form taken from adult female.
Fig. 6. Genital armature of male.
Fig. 7. Distal end of leg with sucker extended.

Fig. 8. Same with sucker retracted.
Fig. 9. Ventral view of beak and mouth opening.
In drawing the figures, a Zeiss microscope was used with tube length of 180 mm. Figs. 1, 2, and 3 were drawn under a magnification ocular 2 and objective A. Fig. 4 is natural size. Fig. 5 with ocular 4 and objective A. Fig. 6 ocular 2 and objective D. Figs. 7, 8, and 9 ocular 4 and objective D.

Referate.

Ritter, Georg, Die Abhängigkeit der Plasmaströmung und der Geißelbewegung vom freien Sauerstoff. (Flora. Bd. LXXXVI. 1899. p. 329—360.)

Die vorliegende Arbeit beschäftigt sich mit der Abhängigkeit der Bewegungsfunktionen vom Sauerstoff und mit der Bedeutung der Ernährung auf diese. — Versuche mit fakultativ anaëroben Bakterien (Bacillus prodigiosus, Proteus vulgaris, Bacterium coli commune, B. acidi lactis u. s. w.) lehrten, daß dieselben Organismen in der That bei verschiedener Ernährung dem Sauerstoffmangel gegenüber sich höchst verschieden verhalten. Bei Anwendung von geeigneten Kulturflüssigkeiten (Traubenzuckerlösung) hielt die anaërobe Bewegung der Bakterien 2-, 3—7mal länger an als beim Fehlen geeigneter Ernährung. „Der Zucker ist es zugleich, welcher diesen Organismen überhaupt ein vom freien Sauerstoff unabhängiges Leben ermöglicht, wie es auch für viele andere (wenn auch nicht alle) Fakultativanaëroben der Fall ist.“ — „Und wenn man ähnliche Versuche mit einem Organismus aufnehmen sollte, welcher in seiner anaëroben Existenz nicht auf Zucker, sondern auf einen anderen Nährstoff angewiesen ist, so ist sicher zu erwarten, daß auch die für Bewegung nötige Energie bei Sauerstoffabschluß aus dem Verarbeiten desselben Stoffes gewonnen sein wird.“

Manche Fakultativanaëroben gaben bei Ausschluß von freiem Sauerstoff schon sehr bald, nach 3—5 Minuten, ihre Bewegung auf. Es geht daraus hervor, daß das Wachstum dieser Anaëroben vom Sauerstoff weniger abhängt als ihre Bewegung. Die verschiedenen Lebensäußerungen werden vom Sauerstoffmangel in verschiedenem Grade beeinflußt, „indem bei geeigneter Ernährung anaërobe Entwickelung wohl in ausgiebigem Maße stattfindet, aber zur Entstehung von bewegungslosen, wenn auch bewegungsfähigen Formen führt“.

Eine ähnliche Beeinflussung gewisser Partialfunktionen zeigen diejenigen Bakterien, deren Pigment- und Enzymproduktion bei anaërober Entwickelung sistiert wird.

Die Characeen, mit welchen sich der zweite Teil der Arbeit befaßt, bieten ein Beispiel dafür, daß auch bei höheren Pflanzen die Fähigkeit zu temporärer Anaërobiose ausgebildet sein kann.

Die Thatsache, daß beispielsweise Nitella geraume Zeit bei Sauerstoffausschluß am Leben bleiben kann, hat Kühne (vergl. dieses Centralbl. Bd. V. 1899. p. 71) durch die Annahme einer in den Zellen gespeicherten Sauerstoffverbindung zu erklären gesucht, der das lebende Plasma je nach Bedarf den nötigen O-Bedarf entnimmt.

Der bei der Assimilation produzierte Sauerstoff wird nach Kühne von den Nitellen nicht nach außen abgegeben, sondern zur Regeneration der genannten O-Verbindung verwendet, welche Kühne mit dem hypothetischen „Inogen“ der Tierphysiologie vergleicht.

Es gelang dem Verf., durch die Bakterienmethode die Ausscheidung von Sauerstoff seitens der assimilierenden Nitellazellen mit Sicherheit nachzuweisen. Die Assimilationsprodukte gaben offenbar dem Plasma neues Material für intramolekulare Atmung und anaërobes Leben.

In der Fähigkeit zu temporärer Anaërobiose sieht Verf. eine interessante Anpassung der Characeen an ihre eigenartigen Lebensbedingungen, da sich annehmen läßt, daß in den charenbewohnten Tümpeln und Gräben die Sauerstoffversorgung wenigstens zeitweise eine mangelhafte sein wird. Küster (München).

Michaëlis, G., Beiträge zur Kenntnis der thermophilen Bakterien. [Aus dem hygienischen Institut der Universität Berlin.] (Arch. f. Hyg. Bd. XXXVI. 1899. p. 285.)

Aus verschiedenen Brunnenwässern isolierte M. 4 Arten thermophiler Bacillen: 1) B. thermophilus aquatilis liquefaciens, 2) B. thermoph. liquefaciens aërobius, 3) B. thermoph. aquatilis chromogenes, 4) B. thermoph. aquatilis anguinosus. Dieselben sind schlanke Stäbchen, 2—4 μ groß, mit Sporenbildung und Eigenbewegung begabt. Indolreaktion negativ. Sie greifen mit Ausnahme von 1 Traubenzucker an, sind fakultativ anaërob, mit Ausnahme von 2. Sie färben sich nach Gram und sind nicht pathogen. Ihr Temperaturoptimum liegt zwischen 50—60°, bei 57° schnelles, kräftiges Wachstum, deutliche Eigenbewegung, kräftige Sporenbildung, gutes Färbungs- und Gärungsvermögen. Bei 70° treten überall Involutionsformen auf. Bei 37° auch nach längerer Zeit (mit Ausnahme von 3) fast gar kein oder nur sehr schwaches Wachstum.

Im Gegensatz zu Schillinger, der die Bezeichnung „thermotolerant“ vorschlug, hält M. an der alten Bezeichnung „thermophil“ fest (wie dies auch vom Ref. [cf. dieses Centralbl. II. Abt. 1898. p. 925] verlangt wurde) und behauptet, daß für die von ihm gefundenen Arten die hohe Temperatur durchaus das Temperaturoptimum ist. Lydia Rabinowitsch (Berlin).

Schlamp vom Hofe, Neuere Erfahrungen und Erfolge bei der Weinbergdüngung und Krankheitsbekämpfung des Weinstockes. Mainz (Ernst Kern) 1899. 82 p.

Der Hauptteil der vorliegenden Arbeit beschäftigt sich mit der Weinbergsdüngung, wobei Verf. zu dem Schlusse kommt, daß bei der Düngung nach den bisher üblichen Methoden der Boden zu wenig Zufuhr an Stickstoff einerseits und Schwefelsäure andererseits erhalte. Er lenkt daher sein Augenmerk vor allem auf den schwefelsauren Ammoniak, bei dessen Anwendung er in zahlreichen Fällen auch günstige Resultate konstatieren konnte.

Dabei beobachtete der Verf. nun auch, daß die durch die Düngung im kräftigsten Wachstum stehenden Pflanzen weit weniger von den

Pilzkrankheiten zu leiden hatten, als andere benachbarte, aber nicht gedüngte Weinstöcke und da er dies sowohl bei einer Düngung mit schwefelsaurem Ammoniak, als auch bei einer solchen mit Gyps beobachtete, so schloß er daraus, daß die Schwefelsäure, im Dünger der Pflanze gegeben, ein spezifisches Mittel gegen Pilzerkrankungen sei. Die Wirkung selbst stellt Sch. sich folgendermaßen vor:

„Die Materie, aus welcher die Körper der die Krankheit bildenden Lebewesen aufgebaut ist, besteht aus an Phosphorsäure gebundenen Proteïnen; sobald diese mit Schwefelsäure in geeigneter Form zusammenkommen, wird die schwächere Phosphorsäure von der stärkeren Schwefelsäure aus ihren Verbindungen ausgetrieben und an Schwefelsäure gebundenes Proteïn gebildet, womit das Protoplasma der Pilze und sie damit selbst zerstört sind."

Auch die Wirkung des Schwefelns gegen Oïdium, wie des Bespritzens mit Bordelaiser Brühe gegen Peronospora denkt sich Verf. als Schwefelsäurewirkung und glaubt, daß man zu demselben Ziele gelange, wenn man die Schwefelsäure in anderer, besser und vollkommener ausnutzbarer Form, durch Düngung, der Pflanze zuführe. Er glaubt, daß dann die Schwefelsäure in den Organismus der Pflanze eintrete und hier schwefelsaure Proteïne erzeuge, die für den Pilz nicht als Nährstoffe geeignet seien.

Daß eine solche Theorie von vornherein völlig verfehlt ist, braucht hier wohl kaum erst betont zu werden. Wenn man auch eine Schwefelsäurewirkung bei direkter Berührung des Pilzes mit den Chemikalien in Erwägung ziehen kann, so ist es doch eine physiologische Unmöglichkeit, daß die Weinpflanze durch eine Düngung mit schwefelsauren oder phosphorsauren Salzen veranlaßt werden könnte, bald schwefelsaure, bald phosphorsaure Proteïne zu bilden.

Dem Ref. erscheint vorläufig die Erklärung der feststehenden Thatsache, daß sowohl mit schwefelsaurem Ammoniak, als mit Gyps gedüngte Weinberge viel weniger unter dem im vorigen Jahre so besonders verheerend aufgetretenen Oïdium zu leiden hatten, nur durch die Annahme möglich, daß durch die Düngung eine allgemeine Kräftigung der Rebstöcke herbeigeführt wurde.

Auch eine Heilung erkrankter Pfirsichbäume durch Bespritzung und Düngung mit einer wässerigen Lösung von schwefelsaurem Ammoniak wird berichtet, jedoch ohne Angabe, welche Krankheit gemeint ist. Appel (Charlottenburg).

Couderc, G., Le Black Rot et son traitement. (Rev. d. vitic. 1899. No. 237. p. 254 f.)

1) Der Black-Rot-Pilz überwintert in den befallenen Beeren und sonstigen Ueberbleibseln des vorangegangenen Jahres. Er fruktifiziert auf diesen im Frühjahr und befällt von dort vermittelst seiner Sporen die grünen Organe der Rebe, in welche er jedoch nur dann eindringt, wenn sie noch sehr jung sind. Dort lebt er unbemerkt etwa 10 Tage lang und bringt dann die für seine Anwesenheit bezeichnenden krebsartigen Flecken hervor. Auf letzteren bilden sich die Pykniden, welche darauf ihre Stylosporen entsenden. Diese befallen ihrerseits die jungen grünen Organe der Rebe und bewirken

nun Flecke, welche bald wieder andere Stylosporen aussenden. Dies wiederholt sich während des ganzen Sommers.

Der Black-Rot verbreitet sich demnach durch periodische Sommergenerationen, welche sich alle 20 Tage folgen. Der Hauptzeitpunkt der Frühjahrsinvasion spiegelt sich daher während des Sommers in dem periodischen Auftreten von Maximalinvasionen wieder. Von den Blättern geht der Pilz, vom Beginn der Blütezeit an, auf die Weinbeeren über. Da letztere bis zur Reife beständig im Wachsen begriffen sind, so sind sie während dieser ganzen Zeit geeignet, vom Pilze befallen zu werden, während die Blätter nur so lange sie jung sind, befallen werden können. Der Pilz fruktifiziert übrigens auf den Beeren wie auf den Blättern und in derselben periodischen Weise. Der Black-Rot beschädigt im allgemeinen die Blätter nur unbedeutend; dagegen kann er die Weinbeeren in wenigen Stunden zerstören und die Ernte, sei es auf einmal, sei es nach und nach, vernichten.

2) Die Kupfersalze sind zur Zeit das einzige praktische Mittel gegen den Black-Rot. Ihre Wirkung besteht darin, daß sie das Auskeimen der Sporen verhindern. Zu diesem Zwecke müssen die Kupfersalze so vollständig und gleichmäßig als möglich auf die Oberfläche aller zu schützenden Organe gebracht werden, bevor der Pilz in dieselben eingedrungen ist.

3) Schutz der Blätter. Die erste Behandlung muß ausgeführt werden, sobald das 5. Blatt des Rebentriebes sich entfaltet.

Die zweite Behandlung hat stattzufinden, sobald die Periode des Auftretens des Black-Rot beendigt ist und, wenn ein solches Auftreten nicht stattgefunden hat, spätestens 20 Tage nach der ersten Behandlung. Die Behandlung ist alle 20 Tage zu wiederholen, indem man sie nach Möglichkeit mit dem Ende einer jeden Periode des Auftretens zusammenfallen läßt.

4) Schutz der Trauben. Die Trauben werden durch zwei unmittelbar aufeinander folgende Behandlungen zu schützen gesucht, von welchen die eine zur Zeit der vollen Blüte, die andere unmittelbar nach derselben ausgeführt wird. Man vervollständigt dieses Verfahren durch 1—2 ergänzende Behandlungen, welche im Juli und im August angewandt werden.

5) Im ganzen genügen 5, höchstens 6 sehr gut ausgeführte Behandlungen, um sich vor dem Black-Rot zu schützen.

6) Alle kupferhaltigen Mittel sind wirksam gegen Black-Rot, aber die neutralen und alkalischen Bordelaiser Brühen sind die einzigen, welche der Rebe nichts schaden, wenn sie in der für die Bekämpfung des Black-Rot erforderlichen Konzentration und Häufigkeit auf alle Organe der Reben gebracht werden. Am besten hat sich die seifenhaltige Bordelaiser Brühe bewährt; sie besteht aus 3 kg Kupfersulfat, 2 kg Kalk und 100 g gewöhnlicher Seife, welche, je nach Umständen, zu 1—2 hl Wasser gegeben werden.

7) Kulturmaßregeln. a) Man muß die befallenen Blätter in dem Maße, als die Flecken erscheinen, entfernen. b) Man soll die Zweige ihrer natürlichen Lage folgen lassen bis zu den unter 4) erwähnten Behandlungen. Nach Vollendung dieser sind die Triebe so senkrecht als möglich aufzubinden. c) Beim Düngen sollen die

Mineraldünger, und unter diesen besonders die phosphorsäure- und kalkhaltigen Dünger vorherrschen.

8) Alle europäischen Rebsorten sind sehr empfindlich gegen Black-Rot, doch lassen sich einige, wie z. B. die Gutedel, leichter schützen. Manche amerikanischen Rebsorten, besonders die Cordifolia und Ruspestris, bleiben frei oder nahezu frei von Black-Rot. Ihre Hybriden mit Vitis vinifera erben in verschiedenem Grade die letztgenannte Eigenschaft und einige darunter können verhaltnismäßig leicht gegen Black-Rot verteidigt werden.

9) Aus der Thatsache einerseits, daß, selbst in den stärksten Herden und den am heftigsten befallenen Ländern, ein heißer und trockener Sommer den Black-Rot vollständig zum Verschwinden bringt und daß andererseits der Black-Rot, im Gegensatz zu Peronospora und Oïdium, nicht plötzlich eine Gegend zu überziehen vermag, sondern daß er mehrere Jahre braucht, um Herde zu bilden und dieselben in einen Zustand zu versetzen, wo die Bekämpfung schwierig ist, schöpft Verf. die Beruhigung, daß der Black-Rot für den europäischen Weinbau ein weit weniger verderbliches Uebel sein wird, als man ursprünglich glaubte fürchten zu müssen.

Moritz (Berlin).

Morgenthaler, J., Der echte Mehltau. Oïdium Tuckeri Berk. 28 p. mit 12 Illustrat. im Text. Aarau (E. Wirz) 1899.

Eine Zusammenfassung des über Oïdium bisher Bekannten unter besonderer Berücksichtigung der für die Praxis wichtigen Fragen der Bekämpfung.

Die Zugehörigkeit des Oïdium Tuckeri zu Uncinula spiralis wird darin als feststehend angenommen und letztere nach Originalen von G. Smith abgebildet.

Da die Wirkung des Schwefels bei Temperaturen unter 25° eine fragliche ist, so ist den Bekämpfungsmitteln als neues eine Vorschrift zu einer Spritzflüssigkeit zugefügt. Die Mischung, die Dufour zusammengestellt und seit 2 Jahren versuchsweise angewendet hat, besteht aus 1 kg Schmierseife, $^1/_2$ kg Schwefelleber gelöst in 100 l Wasser. Die Anwendung soll von gutem Erfolge begleitet gewesen sein. Ferner wird auf eine Winterbehandlung der Reben gegen Oïdium hingewiesen, die aus einem Anstriche, der kurz nach dem Schnitte, also von Anfang Februar bis Mitte April ausgeführt werden soll, besteht. Verwendung dazu findet eine der 3 folgenden Mischungen:

1) 10 kg Kalk und 6—10 kg Eisenvitriol auf 100 l Wasser,
2) eine 10—15-proz. Eisenvitriollösung,
3) eine 5-proz. Schwefelsäurelösung.

Appel (Charlottenburg).

Radais, M., On the blight of Sorghum. (Botanical Gazette. Vol. XXVIII. 1899. p. 65—68.)

Als Krankheitserreger wurden in den am „Hirsebrand“ erkrankten Sorghum-Pflanzen vom Verf. Sproßpilze gefunden, die aus den Geweben und Intercellularräumen der kranken Individuen auf künstliche Nährböden übertragen wurden. Bringt man Proben dieser Hefe

unter die Epidermis gesunder Hirsepflänzchen, so rötet sich das infizierte Gewebe, die Hefen verbreiten sich von der Infektionsstelle aus in den Zellen und Intercellularräumen der Pflanze und die Rötung der Gewebe schreitet immer weiter vor. Die Symptome lassen keinen Zweifel darüber, daß die Versuchsexemplare nach der Infektion am Hirsebrand erkrankt sind. Die Bildung des roten Pigmentes erfolgt zwar auch an verletzten Gewebestellen unabhängig von der Infektion. An nicht infizierten Wundstellen bleibt jedoch die Rotfärbung auf diese selbst beschränkt, ohne weiter um sich zu greifen.

Aehnliche Resultate wie Verf. hatten seinerzeit schon Palmeri und Comes, welche den Hirsebrand auf die Thätigkeit pathogener Spalt- und Sproßpilze zurückführten (Accad. d. Sc. Napoli. 1883).

Küster (München).

Herzog, W., Monographie der Zuckerrübe. Hamburg (Voß) 1899. 170 p.

Das vorliegende Buch behandelt in seinen ersten 3 Teilen die Botanik, Chemie und Kultur der Zuckerrübe, sowie diejenige der Samenrübe; ein 4. Kapitel ist den Krankheiten der Zuckerrübe gewidmet (p. 118—165).

Wie das ganze Buch aus der Praxis heraus geschrieben und für die Praxis berechnet ist, so ist es auch im wesentlichen die Darstellung der Rübenkrankheiten, bei welchen sich der Verf. auf die vorhandene Litteratur, bei den Pilzen unter besonderer Anlehnung an die Darstellungen Frank's und v. Tubeuf's, stützt.

Besonders hervorgehoben sind von den Pilzparasiten: Cercospora beticola, Peronospora Schachtii, Pythium de Baryanum, Sporodesmium putrefaciens, Phyllosticta Betae und tubifica, Uromyces Betae, Phoma Betae, Rhizoctonia, violacea, ferner die Erscheinungen des Wurzelbrandes, sowie die verschiedenen bisher beobachteten Bakteriosen. Daß man mit der Kenntnis der letzteren noch weit im Rückstande ist, geht auch aus der Darstellung Herzog's hervor, der die von sehr verschiedenen Standpunkten mit sehr verschiedener Sorgfalt bisher ausgeführten Arbeiten hierüber kurz zusammenstellt.

Von den tierischen Schädlingen ist naturgemäß Heterodera Schachtii am eingehendsten berücksichtigt. Mit kurzen Charakteristiken der von ihnen hervorgebrachten Schädigungen sind noch aufgenommen: Dorylaimus condamnus, D. incertus und D. macrodorus, Agriotes segetis, Athous hirtus, Melolontha vulgaris und M. solstitialis, Atomaria linearis, Silpha atrata und S. opaca, Cassida nebulosa, Otiorrhynchus ligustici und O. raucus, Cleonus sulcirostris und C. punctiventris, Agrotis segetum, A. corticea und A. exclamationis, Noctua gamma, N. brassicae, N. suasa und N. chenopodii, Botys sticifalis, Anthomyia conformis, Gryllotalpa vulgaris, Julus terrestris und J. guttulatus, Polydesmus complanatus, Lumbricus terrestris und L. communis, Haltica nemorum, Psylloides crysocephala, Forficula auricularia, Aphis papaveris.

Appel (Charlottenburg).

Molliard, Marin, Sur la galle de l'Aulax papaveris. (Revue générale de Botanique. T. XI. 1899. p. 209—217.)

Die Kapseldeformationen an Papaver Rhoeas und P. dubium, welche durch Aulax papaveris verursacht werden, kommen in der Weise zustande, daß in der Nähe des Insekteneies, welches auf die Oberfläche einer Placenta niedergelegt wird, das Placentagewebe stark zu wuchern beginnt und schließlich in Kontakt mit einer oder beiden Nachbarplacenten gerät. Diese werden dadurch gleichsam infiziert und lassen ihrerseits das gleiche abnorme Wachstum erkennen. Zwischen den wuchernden Placenten, die miteinander verwachsen und einen fest verbundenen Gewebekomplex liefern, bleiben nur die Larvenkammern frei. Bei fortschreitender histologischer Differenzierung bilden sich um die letzteren zunächst eiweiß- und stärkereiche Nährzellenschichten, auf welche die aus stark sklerosierten, tüpfelreichen Zellen gebildete Hartschicht folgt. Der übrige Teil des hypertrophisch gewucherten Gewebes bleibt zunächst noch zartwandig. In einer späteren Entwickelungsphase der Galle wird auch er zu Steinzellengewebe.

Diejenigen Zellen, welche ursprünglich Epidermiszellen der Placenten darstellten, nehmen nach der Kontaktfläche hin keine Tüpfelung an.

Larven von Cecidomyia Papaveris sind häufige Bewohner des Aulax-Gallengewebes, das in ihrer Nähe stets unverholzt bleibt und eine besondere Nährschicht zur Entwickelung bringt.

Verf. erwähnt schließlich noch die Deformationen der Mohnstengel, die durch Peronospora arborescens hervorgerufen werden. Küster (München).

Lagerheim, G., Beiträge zur Kenntnis der Zoocecidien des Wachholders (Juniperus communis L.). (Entomologiske Tidskrift. Bd. XX. 1899. p. 113—126.)

Verf. giebt zunächst einige orientierende Mitteilungen über die für Juniperus bisher bekannten Zoocecidien und hiernach eine eingehende Beschreibung eines von ihm an verschiedenen Plätzen in Schweden gefundenen Phytoptocecidium. Es handelt sich um eine Gallenbildung, die sich hauptsächlich in dem am Blattgrund sitzenden Gewebehöcker sowie den kleinen Epidermiswärzchen des Blattgrundes erkennen läßt. Vorwiegend scheint es sich um eine Vergrößerung der Zellen des normalen Gewebes zu handeln.

Ein neues „Diplocecidium“, das durch die gemeinschaftliche Thätigkeit zwei verschiedener Gallentiere zustande kommt, fand Verf. in der Kombination der genannten Milbengalle mit der von Hormomyia juniperina erzeugten. Küster (München).

Entwickelungshemmung und Vernichtung der Bakterien etc.

Townsend, C. O., The effect of ether upon the germination of seeds and spores. (Botanical Gazette. Vol. XXVII. 1899. p. 458—466.)

Verf.'s Versuche an Samen und Sporen (Zea, Avena, Phaseolus, Cucurbita, Mucor, Penicillium) bestätigen die von früheren Autoren bereits beschriebene Beschleunigung der Lebenserscheinungen durch schwache Aetheratmosphäre. Die Keimung erfolgt in dieser eher als unter normalen Bedingungen.

In einer Atmosphäre, die reichlich Aetherdämpfe enthält, wird dagegen die Keimung verzögert oder sogar gänzlich unterdrückt, ohne daß die Versuchsobjekte zu Grunde gingen.

Sporen von Pilzen, die in ätherreicher Atmosphäre gezüchtet worden waren, keimten ihrerseits in Aetheratmosphäre leichter aus als Sporen von normal erwachsenem Pilzmaterial.

Die Wirksamkeit der stärkelösenden Fermente bleibt vom Aether unbeeinflußt. Daß die Lebensfähigkeit der Samen oder Sporen durch Aetherdämpfe wenig oder gar nicht alteriert wird, beweisen die Samen, die durch Aether einige Tage am Keimen verhindert wurden und welche, in ätherfreie Atmosphäre übertragen, normal auskeimen.

Küster (München).

Inhalt.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.

// CENTRALBLATT
für
Bakteriologie, Parasitenkunde u. Infektionskrankheiten.

Zweite Abteilung:

Allgemeine, landwirtschaftlich-technologische Bakteriologie, Gärungsphysiologie, Pflanzenpathologie und Pflanzenschutz.

In Verbindung mit

Prof. Dr. **Adametz** in Wien, Prof. Dr. **J. Behrens** in Karlsruhe i. B., Prof. Dr. **M. W. Beijerinck** in Delft, Geh. Regierungsrat Prof. Dr. **A. B. Frank** in Berlin, Dr. v. **Freudenreich** in Bern, Privatdocent Dr. **Lindau** in Berlin, Prof. Dr. **Lindner** in Berlin, Dr. **Morris**, Chef des Hansen-Laboratory, Jenner-Institute of Preventive Medicine in London, Prof. Dr. **Müller-Thurgau** in Wädensweil, Dr. **Erwin F. Smith** in Washington, D. C., U. S. A., Prof. Dr. **Stutzer** in Breslau, Prof. Dr. **Wehmer** in Hannover, Prof. Dr. **Weigmann** in Kiel und Prof. Dr. **Winogradsky** in St. Petersburg

herausgegeben von

Dr. O. Uhlworm in Cassel

und

Prof. Dr. Emil Christian Hansen in Kopenhagen.

Verlag von Gustav Fischer in Jena.

VI. Bd. **Jena,** den 16. März 1900. **No. 6.**

Jährlich erscheinen 26 Nummern. Preis für den Band (Jahrgang) 20 Mark. Preis für eine einfache Nummer 75 Pfg., für eine Doppelnummer 1 Mark 50 Pfg. Nummern mit Tafeln kosten für jede Tafel 50 Pfg. mehr.

Hierzu als regelmäſsige Beilage die Inhaltsübersichten der I. Abteilung des Centralblattes.

Wünsche wegen Lieferung von besonderen Abdrücken wollen die Herren Mitarbeiter auf die Manuskripte schreiben oder bei Rücksendung der ersten Korrekturabzüge der Verlagsbuchhandlung mitteilen.

Original-Mitteilungen.

Ueber Dextranbildner.

[Aus dem bakteriologischen Laboratorium der landwirtschaftlichen Versuchsstation Hoorn in Holland.]

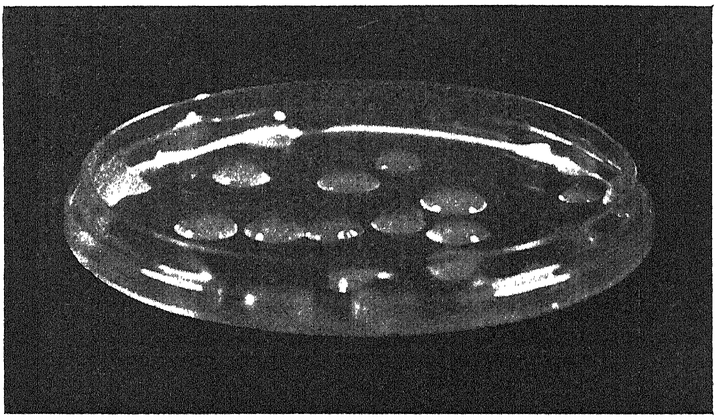
Von **F. W. J. Boekhout.**

Mit 1 Figur.

Wenn man die Litteratur über dextranbildende Bakterien nachschlägt, sieht man, daß man sich auf wenig bearbeitetem Boden befindet. Trotzdem gehören die dextranbildenden Bakterien zu den-

jenigen Organismen, welche sich einer ausgedehnten Verbreitung erfreuen. Zufällig wurde meine Aufmerksamkeit auf diese Bakteriensorte gelenkt, indem eine Probe Milch, welcher 8 Proz. Rohrzucker zugesetzt war, eine eigentümliche schleimige Gerinnung zeigte. Aus dieser schleimig geronnenen Milch isolierte ich einen Streptococcus, von mir Streptococcus hornensis getauft, welcher die charakteristische Eigenschaft besaß, Nährmedien mit ziemlich hohem Rohrzuckergehalt in eine schleimige Masse umzubilden.

Als ich eine Untersuchung nach seiner Verbreitung anstellte, zeigte sich, daß man ihn leicht erhalten kann aus Milch und Centrifugenschlamm, während er gleichfalls in einzelnen Wasserproben und auf Blumen gefunden wurde. Dieser letzte Fundort brachte mich dazu, auch Honig und Bienen auf Dextranbildner zu untersuchen, in



Kolonieenkultur des Streptococcus auf Loeffler's Gelatine mit 20 % Rohrzucker. $^7/_8$ der natürlichen Größe.

der Hoffnung, eine Andeutung zu erhalten für einen eventuellen jährlichen Kreislauf der natürlichen Nährsubstrate, aber umsonst, denn weder Honig noch Bienen, welche im Frühjahr noch nicht geflogen hatten, lieferten in Loeffler'scher Bouillon + 20 Proz. Rohrzucker Entwickelung von Dextranbildnern.

Als Nährböden verwendete ich Loeffler'sche Bouillon mit 20 Proz. Rohrzucker, welche Lösung ich mit der Blume, dem Wasser oder sonstigem Impfmaterial beschickte, oder ich benutzte Loeffler-Gelatine mit 20 Proz. Rohrzucker und impfte dieselbe durch Oberflächenaussaat oder durch das ganze Substrat hindurch. Im ersten Falle erhielt ich eine mehr oder weniger starke gallertige Flüssigkeit, während bei der Anwendung der 20-proz. Rohrzuckergelatine jede oberflächliche Kolonie sich vorthut wie eine große gallertige Wulst (s. Abbildung). Die Zahl der dextranbildenden Bakterienvarietäten, welche ich in dieser Weise isolierte, indem ich den Grad des Vermögens zur Dextranbildung als Maßstab annahm, war ziemlich groß.

Es gelang mir, in kurzer Zeit 5 verschiedene Varietäten scharf zu unterscheiden. Da es aber zu weit führen würde, alle diese einzeln zu untersuchen, begnügte ich mich, eine Varietät, welche sich durch besonders starke Dextranbildung auszeichnete, zum Gegenstand einer eingehenden Untersuchung zu machen.

Der Mikroorganismus, welcher oben beschriebene Umwandlung hervorruft, ist ein kleiner Streptococcus, welcher sich leicht mit Anilinfarbstoffen färben läßt.

I. a) Wachstum auf Loeffler-Gelatine in Platten.

Bei ± 20° C erscheinen die Kolonieen nach etwa 48 Stunden als sehr kleine weiße Pünktchen, welche sich unter dem Mikroskop vorthun wie kugelrunde, scharf begrenzte Kolonieen mit grau-bräunlichem matten Schimmer bei Beobachtung mit durchfallendem Lichte. Uebrigens nimmt man keine besondere Zeichnung an der Oberfläche wahr, es sei denn, daß hier und da schwache Punktierung vorkommt. Bei weiterem Wachstum in schwach geimpften Platten erreichen die Kolonieen nach 3 Tagen einen Durchmesser von 0,2 mm.

Die nahe an der Oberfläche liegenden Kolonieen breiten sich darüber aus in Form einer dünnen, durchsichtigen, äußerst feinen Schicht mit scharfem Rande. Bei fortgesetztem Wachstum tritt in der Form weiter keine Aenderung auf.

b) Stichkulturen in Gelatine.

Die Entwickelung im Impfstich ist nur schwach, es entstehen zahlreiche winzige, weiß gefärbte Kolonieen. An der Oberfläche bildet sich ebenfalls wieder eine wenig ausgedehnte, sehr dünne, kreisförmige Bakterienvegetation.

c) Strichkulturen.

Das Wachstum im Strich zeigt sich wenig aufgelagert, nicht weit ausgedehnt, quer gefurcht, mit gekräuseltem Rande und weiß gefärbt.

II. a) Gelatine mit 20 Proz. Rohrzucker.

Die Kolonieen zeigen in der Kulturplatte nach 24 Stunden Entwickelung und bilden für das bloße Auge matte, weiße, ellipsoidische Klümpchen. Diejenigen, welche an der Oberfläche liegen, bilden halb durchsichtige, schnell an Größe zunehmende Tropfen, welche nach einigen Tagen einen Durchmesser von $^1/_2$ cm erreichen. Unter dem Mikroskop sind die Kolonieen in der Gelatine sehr charakteristisch. Die von Haus aus wahrscheinlich runde Kolonie nimmt durch Ablagerung von Gallerte bald eine unregelmäßige, manchmal Hutpilz ähnliche Form an mit grobkörnigem Kern und halb durchsichtiger Umgebung.

b) Strichkultur.

Dieselbe entwickelt sich sehr rasch wie eine dicke, durchscheinende Gallerte, welche bald die ganze Gelatineoberfläche bedeckt und sich an der Unterseite stark anhäuft zu einer 2,5 cm hohen Schicht innerhalb 10 Tagen. In dieser Gallerte entstehen einzelne Gasblasen, aber erst nach längerer Zeit.

Stichkulturen.

Auch die Stichkultur wächst sehr rasch, in Form einer schleimigen Wurst, welche schnell an Stärke zunimmt und die Gelatine auseinander drückt. Die freie Oberfläche der Gelatine bedeckt sich

mit einer starken Schleimschicht. Auch hier tritt in einzelnen Fällen Gasbildung auf.

Das Wachstum auf Loeffler's Agar mit 20 Proz. Rohrzucker giebt dasselbe Bild wie auf Loeffler's Gelatine mit 20 Proz. Rohrzucker. Auch ohne Zucker kann man Streptococcus hornensis auf Loeffler's Agar züchten.

Zwecks Untersuchung, inwiefern die Konzentration der Zuckerlösung die Entwickelung des Bakteriums beeinflußt, wurden Nährflüssigkeiten hergestellt mit 4, 8, 10, 20, 30 und 40 Proz. Rohrzucker. In der Lösung mit 4 Proz. Rohrzucker findet zwar Dextranbildung statt, aber nicht in dem Maße, daß die Flüssigkeit erstarrt. Bei Konzentrationen von 8—40 Proz. wird das Substrat gallertig; je höher aber der Rohrzuckergehalt, um so länger dauert die Entwickelung.

In nachfolgender Weise wurde untersucht, welche Verbindungen als Stickstoffquelle von dem Strept. horn. assimiliert werden können. Er wurde in ein Nährmedium gebracht, hergestellt aus einer Lösung von Kaliumphosphat 1 g, Magnesiumsulfat 0,2 g und Calciumchlorid 0,1 g per Liter mit 10 Proz. Rohrzucker und in verschiedenen Portionen weiter zugesetzt: Pepton, Asparagin, weinsaures Ammoniak, Kalciumnitrat, Ammoniumsulfat. Von allen diesen Flüssigkeiten wurde nur diejenige mit Pepton gallertig; hieraus ergiebt sich, daß Pepton die einzig brauchbare Stickstoffquelle darstellt.

In ähnlicher Weise suchte ich nach der meist geeigneten Kohlenstoffquelle. So war in Lösungen von Nährsalzen, $^1/_2$ Proz. Pepton mit 10 Proz. Lävulose und 10 Proz. Dextrose kaum merkbares Wachstum zu verzeichnen, dagegen trat in derartiger Lösung mit 10 Proz. Rohrzucker üppige Entwickelung auf. Die beste Kohlenstoffquelle für Strept. horn. bildet also der Rohrzucker.

Dem Sauerstoff gegenüber verhält sich der Strept. horn. wie ein fakultativ anaërober Mikroorganismus. Zwar ist das Wachstum, wenn man den Sauerstoff fernhält, bedeutend schwächer wie bei freiem Zutritt dieses Gases, aber die Dextranbildung findet nach einiger Zeit mit derselben Intensität statt.

Die Optimumtemperatur für das Gedeihen des Strept. horn. liegt zwischen 22—30°. Bei 36° tritt eine Variation ein, insofern, daß bei jener Temperatur zwar Wachstum, aber keine Dextranabscheidung erfolgt. Nach fortgesetzter Züchtung bei 36° C stirbt der Strept. horn. ab. Impft man aber von einer frischen Kultur, bei 36° C erhalten, in Loeffler-Bouillon mit 20 Proz. Rohrzucker und stellt dieselbe in eine Umgebung von 22° C, so nimmt man wieder die normale Erscheinung wahr. Eine Dauervariation wird in dieser Weise aber nicht erhalten.

Zur Entscheidung der Tötungstemperatur wurden Kulturen in Glasröhrchen mit 10 Proz. Rohrzuckerbouillon hergestellt und die Röhrchen alsdann zugeschmolzen. Diese Kulturen wurden jetzt durch Untertauchen im Wasserbade verschiedenen Temperaturen ausgesetzt. Die Zeitdauer, welche die Bouillon zur Erhaltung der gewünschten Temperatur brauchte, war nach vorhergehenden Versuchen $\pm 2^1/_2$ Minuten; als Einwirkungsdauer wählte ich 5 Minuten, so daß die Erwärmung im ganzen $7^1/_2$ Minuten anhielt. Das Ergebnis dieser Ver-

suche war, daß der Strept. horn. schon getötet wurde nach einer Erhitzung auf ± 55° C während 5 Minuten.

Stoffwechsel.

Bei der chemischen Untersuchung bezüglich des Stoffwechsels dieser Bakterien beschränkte ich mich in der Hauptsache auf die Bestimmung des Schleimstoffes und die Trennung des Rohrzuckers. Zwar bildeten sich neben dem Schleimstoff ein kleines Quantum Säure und ein wenig Gas, allein die Menge dieser Produkte war so gering, daß sie nicht näher bestimmt werden konnte.

Den Schleimstoff verschaffte ich mir in hinreichender Menge aus Kulturen in Nährsalzen + Pepton + 20 Proz. Rohrzucker. Nachdem die Flüssigkeit das Aussehen dicken Kleisters angenommen hatte, wurde das 2—3fache Volumen Alkohol hinzugefügt. Infolgedessen fiel der Dextran aus und sammelte sich wie ein Stück frischer Teig am Boden des Gefässes. Gießt man jetzt die überstehende Flüssigkeit ab und digeriert einige Male mit 50 Proz. Alkohol in der Kälte, so verschwinden nach einigen Wochen die eingeschlossenen reduzierenden Zuckerarten. Nach vorhergehendem Trocknen wurde die auf diese Weise erhaltene Substanz untersucht. 500 ccm einer 20-proz. Rohrzuckerlösung mit Nährsalzen und Pepton lieferten nach oben beschriebener Behandlung 21—25 g Substanz, deren Feuchtigkeitsgehalt 2,4 Proz., Aschengehalt 0,7 Proz. und deren Stickstoffgehalt 0,7 Proz. betrug, was auf Eiweiß umgerechnet 4,35 Proz. giebt. Hieraus geht hervor, das ± 92,5 Proz. gebildet wird von organischen Stickstofffreien Körpern.

Diese Substanz konnte mit Schwefelsäure invertiert werden und lieferte alsdann einen rechtsdrehenden Zucker mit Reduktionsvermögen, so daß man zu der Schlußfolgerung kommt, diese invertierte Masse sei Dextrose und der ursprüngliche Stoff muß also Dextran sein. Wie oben angeführt, präzipitiert man den Dextran aus der Kultur mittels Alkohol; der Rückstand, also das Filtrat, wurde eingedampft, damit der Alkohol verschwindet. Es hinterblieb eine syrupartige Masse, welche links drehte und Fehling's Lösung reduzierte. Nach Inversion in der üblichen Weise mittels Salzsäure erhält man mit diesem Syrup eine Flüssigkeit mit höherem Reduktionsvermögen und stärkerer Rotation nach links. Dieses bringt die Vermutung nahe, daß in dem Syrup ein linksdrehender Zucker, vielleicht Lävulose, ist und derselbe außerdem unangerührten Rohrzucker enthält. Auf verschiedene Weise versuchte ich diesen wahrscheinlichen Verlauf des Zuckerumsatzes durch Strept. horn. näher zu begründen, aber ohne Erfolg. Weder durch chemische Reaktionen noch durch biologische Versuche wollte mir dies gelingen. Die chemischen Methoden reichen in diesem Falle nicht aus, da die Angabe, daß es Mikroorganismen gäbe (u. a. Saccharomyces apiculatus), welche Lävulose und Dextrose vergären, aber Rohrzucker intakt lassen, kein Zutrauen verdient, wenigstens nicht für die quantitative Analyse.

Die Zerlegung der Saccharose durch Strept. horn. erfolgt also, soweit ich dies habe verfolgen können, in folgender Weise:

$$C_{12}H_{22}O_{11} = C_6H_{10}O_5 + C_6H_{12}O_6.$$

Hoorn, 25. Januar 1900.

Untersuchungen über die Ursachen des Ranzigwerdens der Butter.

[Aus dem hygienischen Institute der Universität Gießen.]

Von **R. Reinmann,** Assistent an der Versuchsstation Hildesheim.

(Fortsetzung.)

II. Einfluß der chemischen Zusammensetzung der Butter auf das Ranzigwerden.

Ermittelung der einzelnen Bestandteile.

a) Wasserbestimmung. 8—10 g Butter wurden mit Quarzsand innig gemengt und in einer flachen Porzellanschale im Trockenschrank bei ca. 105° C bis zur Gewichtskonstanz getrocknet und aus dem Gewichtsverlust die Wassermenge berechnet.

b) Fettbestimmung. Diese erfolgte auf gewöhnliche Weise[1]. Der bei der Wasserbestimmung erhaltene Rückstand wurde im Soxhlet'schen Fettextraktor mit absolutem Aether bis zur Erschöpfung ausgezogen, der Aether auf dem Wasserbade verdunstet und der Aetherextrakt noch kurze Zeit bei 105° getrocknet.

c) Caseïnbestimmung. Hierbei ermittelt man gewöhnlich den im Caseïn enthaltenen N, indem man die Butter ca. 6 Stunden lang im Trockenschrank (105°) trocknet, das Fett in Aetheralkohol löst und den Rückstand (Caseïn, Milchzucker und Salze nach Kyeldahl verbrennt und die gefundene Stickstoffmenge mit dem Faktor 6,37 vervielfältigt. Man kann aber auch die Stickstoffbestimmung umgehen und den Caseïngehalt direkt ermitteln, indem man den Rückstand mit heißem Wasser so lange behandelt, bis der Milchzucker gelöst ist, den Rückstand trocknet und wiegt und daraus dann durch Veraschen die Salze ermittelt. Diese werden nun ebenfalls in Abzug gebracht, der Rest wird als Caseïn betrachtet.

Um die Anwendung dieser Methode bezüglich der Genauigkeit zu erfahren, untersuchte ich 6 Butterproben auf ihren Caseïngehalt nach Kyeldahl und der direkten Methode; ich erhielt dabei folgende Zahlen:

Nach Kyeldahl	direkt bestimmt
0,633 Proz.	0,641 Proz.
0,576 „	0,578 „
0,723 „	0,729 „
1,002 „	1,010 „
0,392 „	0,371 „
0,829 „	0,813 „

d) Der Milchzucker wird gewöhnlich aus der Differenz berechnet.

e) Mineralische Bestandteile. Diese findet man nach der bei der Caseïnbestimmung angegebenen Methode, oder aber durch vorsichtiges Veraschen einer abgewogenen Menge Butter.

1) Vergl. auch König, Untersuchung landw. u. gewerbl. wichtiger Stoffe. 1891. p. 384.

Sämtliche Bestimmungen wurden stets doppelt ausgeführt, die angegebenen Zahlen beziehen sich auf Mittelwerte.

Die Frage, ob der Caseïn- und Milchzuckergehalt einer Butter einen Einfluß auf das Ranzigwerden ausübt, suchte ich dadurch zu lösen, daß ich mir eine Butter herstellte mit möglichst hohem Caseïn- und Milchzuckergehalt. Eine zweite Probe wurde durch Auskneten so gut es ging von der Buttermilch befreit. Eine dritte Probe schüttelte ich so lange mit Wasser, bis dasselbe vollständig klar abgegossen werden konnte. Auf diese Weise erhielt ich nun 3 Butterproben von folgender chemischer Zusammensetzung:

	A		B		C	
Wasser	16,322	Proz.	13,889	Proz.	11,875	Proz.
Fett	80,376	„	84,645	„	87,341	„
Caseïn	1,757	„	0,566	„	0,111	„
Milchzucker etc.	1,402	„	0,762	„	0,060	„
Salze	0,143	„	0,138	„	0,113	„

Nachdem die Acidität festgestellt war, stellte ich die Proben im Laboratorium bei einer Temperatur von ca. 16—19 ° C in Bechergläsern auf und beobachtete längere Zeit, bis die Butter ranzig war, analisierte sie von neuem und erhielt dabei folgende Zahlen:

	A		B		C	
Wasser	15,262	Proz.	13,374	Proz.	11,864	Proz.
Fett	80,970	„	85,122	„	87,838	„
Caseïn	1,134	„	0,411	„	0,076	„
Milchzucker	2,492	„	0,957	„	0,107	„
Salze	0,142	„	0,136	„	0,115	„

Wie man sieht, haben die Proben A und B einen Wasserverlust erlitten, dieser erklärt sich natürlich durch Verdunstung, was in der langen Zeit (der Versuch dauerte 6 Wochen) nicht befremden kann. Bei A und B ist der Fettgehalt etwas gestiegen, was ebenfalls durch Wasserverdunstung seine Erklärung finden kann. Der Caseïngehalt ist durchweg etwas zurückgegangen, was auf die Thätigkeit von Mikroorganismen zurückzuführen ist, indem diese aus dem Stickstoff des Caseïns Ammoniak bildeten, welcher sich verflüchtigte. Die scheinbare Zunahme von Milchzucker ließe sich nur dadurch erklären, daß durch Mikroorganismenthätigkeit aus dem Caseïngehalt alkohollösliche Verbindungen gebildet worden sind. Der Milchzucker als solcher kann selbstverständlich nicht zugenommen haben. Da übrigens der Milchzucker, wie schon erwähnt, aus der Differenz berechnet wurde, so wird man sich den Schlußfolgerungen vorsichtig gegenüberzustellen haben. Die mineralischen Bestandteile konnten selbstverständlich weder eine Zu- noch eine Abnahme erfahren.

In Bezug auf die Bildung freier Säure und das Ranzigwerden dieser 3 Proben wird nun folgende Tabelle (p. 168) Aufschluß geben:

Znm Vergleich dieser Betrachtungen will ich jetzt das Verhalten einer Butter anführen, welche ich aus sterilisiertem Rahm selbst herstellte. Dieselbe hatte folgende Zusammensetzung:

Wasser	15,037	Proz.
Fett	82,530	„
Caseïn	1,233	„
Milchzucker	1,062	„
Salze	0,138	„

Dat.	A Bemerkung	A S°	B Bemerkung	B S°	C Bemerkung	C S°
2. II.	Frisch u. angenehm	3,6	Frisch u. angenehm	3,2	Frisch u. angenehm	1,5
6. II.	Schwach ranzig	7,7	Noch gut	4,4	id.	3,0
10. II.	Ranzig	12,4	Schwach ranzig	8,3	id.	4,6
15. II.	Sehr stark ranzig	19,8	Ranzig	13,5	Dumpfiger Geruch, aber noch gut	6,2
21. II.	id.	31,7	Stark ranzig	14,3	Wenig ranzig	7,5
27. II.	id.	36,0	id.	16,7	Ranzig	8,2
8. III.	id.	43,1		17,6	id.	11,1
18. III.	id.	45,5		19,2	id.	12,4

Abgesehen von einem kleinen Wasserverlust, hatte sich die Zusammensetzung nach 6 Wochen nicht geändert. Die Butter hatte eine Anfangsacidität von 2,7; diese Zahl blieb während des Versuches auf ziemlich gleicher Höhe und erreichte bei Beendigung die Zahl 3,0. Auch heute noch, am 8. Juni, also nach mehr als 4 Monaten, ist die Butter noch gut erhalten.

Vergleichen wir die 3 Proben A, B und C unter sich, so finden wir, daß bei einem hohen Caseïn- und Milchzuckergehalt die Butter schneller und heftiger ranzig wird (A). Bei B ist das Resultat schon günstiger, und bei C haben wir bereits eine hohe Haltbarkeit.

Auf den ersten Anblick würde man geneigt sein, das schnellere Ranzigwerden von A und B dem hohen Gehalt an Caseïn und Milchzucker zuzuschreiben; doch hatte die sterile Butter ebenfalls einen hohen Gehalt an Caseïn und Milchzucker und wurde nicht ranzig. Wie erklären wir nun diese Thatsache? Dem Sauerstoff allein kann eine wesentliche Bedeutung beim Ranzigwerden nicht zuerkannt werden; denn die sterile Butter blieb unverändert, obwohl Sauerstoff und Licht ungehinderten Zutritt hatten. Es bleibt daher für das Zustandekommen des Ranzigwerdens der Butter keine andere Erklärung übrig, als daß es eben Mikroorganismen oder event. Fermente (Enzyme) sind, welche diese Veränderungen hervorrufen.

III. Einfluss des Sauerstoffs und des Lichts auf das Ranzigwerden.

Die hierzu benutzte Butter wies folgende Zusammensetzung auf:

Wasser	13,150	Proz.
Fett	85,213	„
Caseïn	0,507	„
Milchzucker	0,987	„
Salze	0,143	„

Um bei diesen Versuchen den Sauerstoff der Luft vollständig auszuschließen, ging ich auf folgende Weise vor:

In den von Botkin[1]) konstruierten Apparat zur Züchtung anaërober Bakterien stellte ich ein Schälchen mit Pyrogallussäure, stülpte dann, nachdem ich die Butter ebenfalls hineingebracht hatte, die Glasglocke über und ließ nun ca. $^1/_2$ Stunde Wasserstoff durchströmen, fügte dann mittels einer hierzu geeigneten, syphonartig ge-

1) Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. Bd. X.

bogenen Glasröhre 10 ccm einer 40-proz. KOH zu dem Pyrogallol. An der Braunfärbung bezw. an der Nichtbraunfärbung der alkalischen Pyrogallollösung hatte ich nun eine sichere Garantie, daß der Raum in der Glasglocke vollständig sauerstofffrei war.

Um vollständige Ausschließung des Lichtes zu bewirken, stellte ich die Butter in die Dunkelkammer.

Nachstehende Tabellen enthalten die Resultate.

a) Butter bei Luft- und Lichtzutritt.
Kontrolle.

Datum	Temperatur °C	Bemerkung	S°
17. IV.	16	Frisch und angenehm	5,1
26. IV.	19,5	Käsiger Geruch	7,1
1. V.	16	Ranzig	10,8
9. V.	15	Stark ranzig	15,0
16. V.	17	id.	18,5
6. VI.	21	id.	—

b) Butter bei Lichtabschluß, aber Luftzutritt.

Datum	Temperatur °C	Bemerkung	S°
17. IV.	14	Frisch und angenehm	5,1
26. IV.	15	Eigentümlich unangenehmer Geruch	6,3
1. V.	16	Schwach ranzig	7,5
9. V.	19	Ranzig	9,2
16. V.	17	Stark ranzig	15,0
6. VI.	17	id.	21,3

c) Butter bei Luftabschluß, aber Lichtzutritt.

Datum	Temperatur °C	Bemerkung	S°
17. IV.	16	Frisch und angenehm	5,1
26. IV.	19,5	id.	5,6
4. V.	16	id.	6,2
16. V.	15	id.	6,6
6. VI.	21	Etwas verändert, aber noch gut	7,5

d) Butter bei Luft- und Lichtabschluß.

Datum	Temperatur °C	Bemerkung	S°
17. IV.	14	Frisch und angenehm	5,1
26. IV.	15	id.	5,3
4. V.	16	id.	5,8
16. V.	19	id.	6,0
6. VI.	17	Etwas verändert, aber noch gut	7,6

Aus a) und b) ergiebt sich, daß das Licht eine beachtenswerte Rolle nicht spielt. Beide Proben wurden in der gleichen Zeit ranzig, der etwas ungleiche Säuregrad der beiden Proben dürfte in der verschiedenen Temperatur, bei welcher die Proben aufbewahrt wurden, seine Erklärung finden.

c) und d) weisen unter sich ebenfalls keine Verschiedenheiten auf. Die Acidität hat zwar etwas zugenommen, aber die Butter zeigte bei Beendigung des Versuches keine Spur von Ranzigkeit. Diese Versuche würden demnach wieder sehr für die Beteiligung des Luftsauerstoffs am Ranzigwerden sprechen. Es könnten aber auch, und diese Möglichkeit muß wohl berücksichtigt werden, streng aërobe Bakterien sein, welche, weil es ihnen an Sauerstoff fehlte, nicht zu vegetieren vermochten. Das Eine geht jedoch aus den Versuchen ziemlich sicher hervor, daß den anaëroben Mikroorganismen kaum eine Bedeutung beim Ranzigwerden zukommt.

Anschließend hieran glaubte ich auch noch die Wirkung des Sonnenlichtes in Betracht ziehen zu sollen. Es scheint mir dies um so eher geboten, weil Duclaux (l. c.) dem Sonnenlicht eine bedeutende Rolle beim Ranzigwerden zuschrieb.

Zu diesem Versuch stellte ich die Butter an ein nach Süden gelegenes Fenster des hygienischen Instituts, so daß die Butter jeden Tag von 12 Uhr ab bis zum Sonnenuntergang dem direkten Sonnenlicht ausgesetzt blieb. Nachstehende Tabelle giebt über das Verhalten Aufschluß:

Datum	Witterung	Bemerkung	S⁰
16. III.	Sonne	Frisch und angenehm	5,0
17. u. 18. III.	Sonne	Talgig und stark saurer Geruch	—
19. III.	teilweise Sonne	id.	—
20. III.	teilweise Sonne	id.	—
21. III.	teilweise Sonne	Sehr stark saurer und höchst unangenehmer Geruch, jedoch nicht ranzig	—
22. III.	Sonne		8,1
23. III.	teilw. Sonne		—
24. III.	Sonne		—
25. III.	Sonne		8,0
26. III.	Schnee u. Reg.		—
27. III.	Sonne		—
28. III.	Sonne		—
29. III.	Sonne		—
30. III.	bewölkt		8,2
31. III.	Sonne		—
1. IV.	bewölkt		—
2. IV.	Sonne		—
v. 3.—11. IV.	Regentage		—
12. IV.	Sonne		8,4
13. IV.	Sonne		—
14. IV.	Sonne		8,6
15. IV.	Sonne	Butter sehr stark talgig und ungenießbar, aber nicht ranzig	—

Dieser Versuch, der mehrfach wiederholt wurde, bestätigt somit die Angaben von Duclaux, wonach die Butter an der Sonne sehr schnell ranzig wird, nicht. Der Umstand, daß die Butter an der Sonne eine sehr schlechte Beschaffenheit annimmt, mag Duclaux veranlaßt haben, diesen Schluß zu ziehen.

Von anderer Seite wurde nun noch die Vermutung ausgesprochen, daß die aus dem Milchzucker, durch die Thätigkeit der Milchsäurebakterien, entstandene Milchsäure zersetzend auf die Butter einwirken soll. Ich habe das Verhalten von chemisch reiner Milchsäure zur

Butter geprüft und dabei gefunden, daß die Milchsäure (2 Proz.) das Ranzigwerden im Gegenteil verzögert.

IV. Einfluss der Mikroorganismen und Fermente auf das Ranzigwerden der Butter.

Um die Wirkung dieser Faktoren zu studieren, können verschiedene Wege eingeschlagen werden:

1) Zusatz von Antiseptika zur Butter.
2) Infektion steriler Butter mit ranziger.
3) Einwirkung von Reinkulturen.
   a) auf gewöhnliche Butter,
   b) auf sterile Butter.

Bezüglich der ersten Frage liegen nähere Angaben bereits vor.

Bersch[1]) empfiehlt, die Butter mit 0,2—0,3-proz. salicylsäurehaltigem Wasser zu waschen. Dieselben Vorschläge wurden auch von v. Heyden[2]) gemacht. Ferner haben Magnetti-Musso[3]) und Soxhlet[4]) die Wirkung von Salicylsäure auf Milch und Butter untersucht, auch diese Forscher bestätigen den günstigen Einfluß dieses Antiseptikums. Maercker[5]) empfiehlt Zusatz von Fluornatrium, um eine haltbare Butter zu erzielen. Aehnliche Angaben machen auch Großfils[6]), Vieth[7]), Carthy[8]) u. A.

Portele[9]) und Krueger[10]) verwerfen zwar derartige Zusätze zur Butter wegen ihrer gesundheitschädlichen Wirkung, geben aber zu, daß solche Zusätze ausgezeichnet wirken.

Lafar (l. c.) fand, daß Kochsalzzusatz den Bakteriengehalt der Butter bedeutend herabzusetzen vermag, aber nicht imstande sei, alle Keime zu vernichten, selbst dann nicht, wenn der Zusatz 10 Proz. betrug.

Ebenso fand v. Klecki (l. c.), daß bei Kochsalzzusatz (4 Proz.) das Ranzigwerden verzögert wird. Butter mit 4 Proz. Fluorkali wurde überhaupt nicht ranzig.

Bei meinen Versuchen über die Wirkung der Antiseptika erhielt ich ähnliche Resultate, welche nachstehend folgen.

1) Zusatz von Antiseptica zur Butter.

Ein normale, gut ausgearbeitete Butter teilte ich in 5 Proben und zwar:

A. ohne jeglichen Zusatz,
B. mit 1 Proz. Kochsalz,
C. „ 6 „ „

1) Bersch, Die Konservierungsmittel. Wien 1882. p. 94.
2) Chem. Centralbl. 1877. p. 127.
3) Moniteur scientifique. 1875. p. 1016. (Ref. im Jahresber. d. Agrikult.-Chemie. p. 301.)
4) Jahresber. d. Agrikult.-Chemie. 1878. p. 598.
5) Der Landwirt. 24. Jahrg. No. 76.
6) Molkerei-Ztg. Hildesheim. 1887. No. 28.
7) Milch-Ztg. 1891. No. 96.
8) Landw. Centralbl. für die Provinz Posen. 1891. p. 215.
9) Landw. Versuchsstationen. Bd. XXVII. p. 147.
10) Molkereiztg. Hildesheim. 1892. No. 34—38.

D. mit 1 Proz. Salicylsäure,
E. „ 5 „ „

Datum	A		B		C		D		E	
	Bemerkung	S°	Bemerkung	S°	Bemerkung	S°	Bemerkung	S°	Bemerkung	S°
2. II.	Frisch und angenehm	3,5	Frisch und angenehm	3,5	Frisch und angenehm	3,5	Frisch und angenehm	12,2	Frisch und angenehm	36,4
14. II.	Stark ranzig	10,3	Schwach ranzig	8,4	id.	4,1	id.	12,5	id.	36,4
4. III.	id.	15,1	Stark ranzig	13,5	id.	6,4	id.	12,3	id.	36,7
15. III.	id.	19,7	id.	15,8	Eigentümlich. Geruch	7,2	Unverändert	12,6	Unverändert	36,5
5. IV.	id.	23,2	id.	16,7	Ranzig	8,1	id.	12,4	id.	36,4
2. VI.	Ganz verdorb.	—	id.	—	id.	10,3	id.	12,4	id.	36,5

Die konservierende Wirkung des Kochsalzes tritt deutlich hervor, vermag aber, wie wir sehen, das Ranzigwerden nicht zu verhindern. Die Probe A ohne jeglichen Zusatz war bereits nach 12 Tagen stark ranzig, B mit 1 Proz. NaCl nach dieser Zeit nur schwach und C mit 6 Proz. NaCl brauchte ungefähr 6 Wochen bis zum Ranzigwerden. Salicylsäure stellt die Säureproduktion sofort ein, die Butter behält ihr Aroma.

Aus diesen Versuchen geht weiter hervor, daß auch hier der Luftsauerstoff nicht als Ursache des Ranzigwerdens gelten kann, denn die Butter mit Salicylsäure veränderte sich nicht. Wir können daher als Ursache des Ranzigwerdens der Butter nur Mikroorganismenthätigkeit oder Fermentwirkung (Enzyme) annehmen.

2) Infektion steriler Butter mit ranziger.

Dieser Versuch erforderte zunächst die Herstellung einer sterilen Butter. Der einfachste Weg wäre nun der, daß man durch Erhitzen der Butter die Mikroorganismen abtötet. Die nach dieser Richtung angestellten Versuche schlugen fehl, da es sich herausstellte, daß so erhitzte Butter die Eigenschaft, ranzig zu werden, verloren hatte. Der Ansicht von Soxhlet (l. c.), wonach Butterfett auch für sich ranzig wird, vermag ich daher nicht beizutreten, denn Butterfett, mit ranziger Butter infiziert, verhielt sich gerade so wie nicht infiziertes Butterfett, es wurde nach einiger Zeit talgig, zeigte aber absolut keine Spur von einem ranzigen Geruch.

Bekanntlich findet beim Erhitzen der Butter eine Trennung statt in Butterfett und Nichtfett (Caseïn, Milchzucker), in reinem Butterfett aber, wie Krueger[1]) und Ritsert[2]) gezeigt haben, Mikroorganismen nicht zu vegetieren vermögen. Auch ich konnte in dem mit ranziger Butter infizierten Butterfett kein Mikroorganismenwachstum konstatieren.

Ich war daher genötigt, einen anderen Weg einzuschlagen.

---

1) Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. VII. p. 425.
2) l. c.

Bereits Schuppan[1]), Popp-Becker[2]), Roth[3]), H. Schmidt[4]) und in neuester Zeit Lehmann[5]) haben darauf aufmerksam gemacht, daß man aus erhitztem Rahm Butter herstellen könne, die bezüglich der Haltbarkeit ein vollendetes Produkt darstellt.

Ich ging nun folgendermaßen vor:

1 l frischer Rahm wurde bei 112° C im Autoklaven 15 Minuten sterilisiert, nach dem Erkalten in einem hinlänglich großen Präparatenglase so lange geschüttelt, bis sich das Milchfett zu Butter vereinigt hatte. Dieser Prozeß war gewöhnlich nach ca. 10—16 Minuten beendigt. Die Buttermilch befreite ich durch Kneten mit sterilen Instrumenten. Auf solche Weise erhielt ich nun eine nahezu sterile Butter; zu verhindern war es natürlich nicht, daß bei diesen Manipulationen etwaige Luftkeime in die Butter gelangen konnten. Mittels des Plattenverfahrens konnte ich indessen aus solcher Butter auch nach längerer Zeit keine Bakterienvegetation konstatieren.

Der Einfachheit halber bezeichne ich in der Folge die Butter, welche ich aus sterilem Rahm in der angegebenen Weise herstellte, stets als „Sterilrahmbutter".

Diese Sterilrahmbutter bewahrte ich in sterilen Doppelschalen auf, so zwar, daß Luft und Licht ungehinderten Zutritt hatten, und beobachtete sie längere Zeit. Während gewöhnliche Butter, die ich unter ganz gleichen Bedingungen aufbewahrte, nach ca. 10 Tagen stets mehr oder weniger ranzig war, konnte ich an der Sterilrahmbutter keinerlei Veränderungen konstatieren. Da solche Butter auch dann nicht ranzig wurde, wenn sie längere Zeit offen an der Luft stand, wo sie doch genug Gelegenheit hatte, mit Mikroorganismen in Berührung zu kommen, so vermutete ich, daß diese Butter durch das starke Erhitzen des Rahms die Eigenschaft, ranzig zu werden, eingebüßt hätte. Die angestellten Versuche bestätigten indessen diese Ansicht nicht, denn solche Butter konnte durch Infektion mit ranziger Butter ebenso oder noch stärker ranzig gemacht werden, wie folgender Versuch zeigt.

Sterilrahmbutter infizierte ich mit einer Spur ranziger Butter so natürlich, daß in ersterer unmittelbar nach der Infektion von Ranzigkeit nichts zu entdecken war. Eine andere Probe nicht infizierter Sterilrahmbutter diente mir als Kontrolle.

Datum	Infizierte Butter		(Sterilrahmbutter) Kontrolle	
	Bemerkung	S°	Bemerkung	S°
16. II.	Frisch und angenehm	3,5	Frisch und angenehm	3,5
22. II.	Schwach ranzig	7,2	id.	3,6
27. II.	Stark ranzig	9,5	id.	3,6
3. III.	Sehr stark ranzig	20,0	id.	3,5
16. III.	Vollständig verdorben	30,0	id.	3,7
27. III.		35,0	Unverändert	3,6

1) Centralbl. f. Bakt. etc. 1893. p. 558.

2) Hyg. Rundschau. Bd. XIII.

3) Ueber das Vorkommen von Tuberkelbacillen in der Butter. (Korrespondenzbl. f. Schweizer Aerzte. Jahrg. XXIV. 1894. p. 521.)

4) l. c.

5) Arch. f. Hyg. 1899.

Die infizierte Butter war also schon nach 6 Tagen ranzig, die Kontrolle dagegen, die nicht geimpft wurde, blieb die ganze Versuchsdauer unverändert. Dieser Versuch, der für die Erklärung der Ursachen des Ranzigwerdens der Butter die Grundlage bietet, zeigt also deutlich, daß das Ranzigwerden der Butter nicht vom Luftsauerstoff, sondern von anderen Faktoren abhängig ist. Es würden demnach für das Zustandekommen des Ranzigwerdens der geimpften Sterilrahmbutter noch zwei Möglichkeiten in Betracht kommen können, nämlich:

1) Die in der zur Impfung benutzten ranzigen Butter vorhandenen Mikroorganismen.

2) Die ebenfalls in dieser Butter vorhandenen Fermente (Enzyme).

Ist die Vermutung, daß Mikroorganismen das Ranzigwerden bedingen, richtig, so muß es auch gelingen, durch Hinzuimpfung von Mikroben die Sterilrahmbutter ranzig zu machen. Wenn dies thatsächlich möglich ist, so fällt die Annahme einer Fermentwirkung dahin.

Um zwischen diesen zwei Möglichkeiten zu entscheiden, untersuchte ich nun eine größere Anzahl von Butterproben auf vorhandene Species von Mikroorganismen, welch letztere ich dann in Reinkultur auf gewöhnliche und auf Sterilrahmbutter einwirken ließ.

Ueber die Isolierung der Mikroorganismen aus der Butter glaube ich besondere Angaben nicht machen zu müssen. Ich benutzte das von R. Koch eingeführte Plattenverfahren.

Als Nährböden fanden Fleischwasserpepton-Gelatine sowie Fleischwasserpepton-Milchzucker-Gelatine Anwendung.

Zur Züchtung der Anaëroben verwendete ich den bekannten Botkin'schen Apparat.

Die aus der Butter isolierten Mikroorganismen identifizierte ich mit Hilfe von Lehmann's bakteriologischer Diagnostik sowie des Werkes von Flügge „Die Mikroorganismen".

Es wurden nur solche Mikroben berücksichtigt, welche sich öfters vorfanden; diejenigen, die nur einzeln vorkamen, fanden keine Berücksichtigung, weil anzunehmen war, daß diese mit dem Ranzigwerden in keiner Beziehung standen.

3) Einwirkung von Reinkulturen auf Butter.

Im Jahre 1890 untersuchte Krueger (l. c.) eine käsige Butter in bakteriologischer Beziehung. Die Butter enthielt ziemlich viel Eiweißstoffe (2,15 Proz.) und Milchzucker (1,254 Proz.). In dieser Butter fand Krueger mit Hilfe des Plattenkulturverfahrens folgende 6 Species:

1) Micrococcus acidi lactici,
2) Bacillus fluorescens non liquefaciens,
3) Bacillus acidi lactici,
4) Saccharomyces flava lactis,
5) Saccharomyces acidi lactis,
6) Oïdium lactis.

Krueger stellte mit diesen Mikroorganismen Gärungsversuche an und fand Folgendes:

1) Micrococcus acidi lactici bildet aus dem Milchzucker Milchsäure und peptonisiert darauf die Eiweißkörper.

2) Bacillus fluorescens non liquefaciens bildet aus den Triglyceriden Buttersäure und Ameisensäure, leitet faulige Gärung ein und bildet als Endprodukt Ammoniak und Trimethylamin.

3) Bacillus acidi lactici bildet aus Milchzucker Milchsäure und Spuren von Kohlensäure.

Die beiden Saccharomyceten vergärten Traubenzucker; Oïdium zeigte keine besonderen physiologischen Wirkungen.

Lafar (l. c.) fand in seinen Butterproben folgende Mikroorganismenformen:

1) Bacterium lactis aërogenes,
2) Bacillus acidi lactici,
3) Bacterium butyri colloideum,
4) Bacillus butyri fluorescens,
5) Sproßpilze.

Nach den von mir gemachten Beobachtungen scheint der Bacillus butyri fluorescens identisch zu sein mit dem in der Butter massenhaft vorkommenden Bacillus fluorescens liquefaciens.

v. Klecki (l. c.) isolierte folgende Arten:

1) Bacillus butyri I,
2) Diplococcus butyri,
3) Bacillus limbatus butyri,
4) Tetracoccus butyri,
5) Bacillus butyri II.

In den von mir untersuchten Butterproben fand ich folgende Species:

1) Micrococcus acidi lactici,
2) Sarcina lutea,
3) Bacillus acidi lactici,
4) „ helvolum,
5) „ coli communis[1]),
6) Coli-ähnlicher (Erdbeer-)Bacillus,
7) Bacillus mesentericus vulgatus,
8) „ butyricus Hueppe,
9) „ „ Botkin,
10) „ fluorescens liquefaciens,
11) Proteus mirabilis,
12) Streptothrix alba,
13) Oïdium lactis,
14) ein nicht identifizierter Sproßpilz,
15) weiße Hefe,
16) rosa Hefe,
17) einen nicht näher identifizierten Mucor-Pilz.

---

1) Bakt. coli com. wurde nur zweimal gefunden, da aber nach Escherich (l. c.) den Bakterien ein bedeutendes Fettspaltungsvermögen zukommt, so glaubte ich diese Bakterienart ebenfalls berücksichtigen zu sollen.

Wie man sieht, beherbergt die Butter eine sehr erhebliche Anzahl von verschiedenen Spezies, dies kann indessen nicht befremden, wenn man bedenkt, daß in dem Rohmaterial der Butter, also in der Milch und im Rahm, schon eine große Anzahl vorhanden ist. Außerdem kommt die Butter stets mit Luft und Wasser, mit den Gefäßen, den Händen etc. in Berührung, welche alle im gegebenen Falle die Butter infizieren. Die auf diese Weise in die Butter gelangten Keime finden infolge ihres Gehaltes an Eiweiß und Milchzucker günstige Fortpflanzungsbedingungen.

Um eine möglichst große Menge einer Reinkultur in die Butter hineinbringen zu können, fertigte ich Agarplatten an und bestrich die Oberfläche mit der betreffenden Reinkultur, stellte sie dann auf einige Tage in den Brutschrank (22° C). Die Reinkultur, die sich nun über die ganze Oberfläche ausbreitete, schabte ich mit einem sterilen Instrument ab. Die so erhaltenen, im üppigsten Wachstum stehenden Kulturen verwendete ich zur Infizierung der Butter. Ich hatte deshalb die Absicht, eine möglichst große Menge einer Reinkultur zuzusetzen, damit sich die Veränderungen um so prägnanter herausstellen sollten, namentlich in denjenigen Versuchen, in welchen nicht Sterilrahmbutter, sondern gewöhnliche Butter verwendet wurde; auch hoffte ich, es würde die zugesetzte Reinkultur die in der gewöhnlichen Butter vorhandenen Mikroorganismen überwuchern.

Auf diese Weise glaubte ich eine bestimmte Spezies herauszufinden, welche jene charakteristischen Veränderungen, also das Ranzigwerden, hervorruft. (Schluß folgt.)

Referate.

Effront, J., Les enzymes et leurs applications. 368 p. Paris (G. Carré u. C. Naud) 1899.

Während der hier vor Kurzem besprochene 2. Band der Mikrobiologie von E. Duclaux die Enzyme mehr vom biologischen Standpunkte betrachtet, ist das Werk Effront's auf eine andere Grundlage gestellt. Im wesentlichen tritt hier die chemisch-theoretische und technische Seite in den Vordergrund. Die Biologie der Bakterien und Hefen wird in einigen einleitenden Kapiteln behandelt und im übrigen Teile des Buches mit berücksichtigt. Es wird dadurch eine große Einheitlichkeit in der Darstellung erzielt, welche durch eine knappe und übersichtliche Form sich auszeichnet und zur Einführung in die Kenntnis der Enzyme wohl geeignet ist. Eine ganze Reihe von biologisch interessanten Daten aus den eigenen Forschungsergebnissen des Verf. gelangen in dem Buche zu ihrem Rechte. Wir besitzen in deutscher Sprache bekanntlich kein Buch, welches das ganze Gebiet der Enzyme behandelt.

Der Verf. behandelt nach der erwähnten Einleitung: Individualität der Enzyme, Sucrase und ihre technische Verwendung: Amylase

und ihre technische Anwendung und chemische Wirksamkeit; Bedeutung der Amylase für die Bierbrauerei; Fabrikation des Malzzuckers; Teiggärung; Amylase in der Brennerei; Analyse des Malzes; Maltase und ihre Verwendung in der Technik; Enzyme, welche auf einige andere Kohlehydrate einwirken (Trehalase, Laktase, Inulase, Pectase, Cytase, Carubinase); Enzyme der Glyceride und der Glucoside; Zymase; Oxydasen. Ein besonderer Nachdruck ist gelegt auf die Darstellung der einzelnen Enzyme und die quantitative Bestimmung ihrer Wirksamkeit. Auch die jüngsten Ergebnisse der Erforschung der ostasiatischen Hefen, der Arten der Gattung des Aspergillus sowie Amylomyces in ihren verschiedenen Anwendungen werden ausführlich behandelt. Jedem Kapitel ist ein Litteraturverzeichnis beigegeben und am Schlusse ist ein Sachregister vorhanden.

Maurizio (Berlin).

Bienstock, Untersuchungen über die Aetiologie der Eiweißfäulnis. (Arch. f. Hyg. Bd. XXXVI. Heft 4.)

Die experimentelle Erforschung der Eiweißfäulnis nach ihrer Aetiologie ist eine dürftige und beschränkt sich auf das Studium einer Anzahl anaërober Bakterien durch Nencki, Kerry, Bovet, der Proteus-Arten durch Hauser u. A. des Bac. putrificus durch den Autor.

B. studierte am Fibrin die Eiweißfäulnis, indem er es einerseits mit Bakterien impfte, denen eine Beziehung zur Fäulnis zugesprochen wird, andererseits im spontan faulenden Fibrin den oder die Erreger der Zersetzung zu isolieren versuchte.

In der ersten Versuchsreihe gelang es nicht, durch irgend einen der 24 geprüften Mikroorganismen Fibrin zum Faulen zu bringen; es wurde deshalb im faulenden Fibrin nach dem Erreger gefahndet.

Ueberall, wo durch die Fäulnis das Fibrin vollständig zerfiel, ließen sich Trommelschläger bildende schlanke Bacillen nachweisen, die sich durch anaërobe Kultur auch isolieren ließen. Ihre morphologischen und kulturellen Eigenschaften sind im Original nachzulesen.

Dieser „Bacillus putrificus“ gab nun in allen Versuchen, die unter anaëroben Bedingungen gemacht wurden, Anlaß zur Fibrinfäulnis; diese blieb aus, sobald die infizierten Gläschen, die das Fibrin enthielten, unter aërobe Bedingungen gestellt waren.

Für seine Wirkung in der Natur war er daher wahrscheinlich auf die Hilfe aërober Bakterien angewiesen. B. prüfte nun wiederum die oben erwähnten 24 aëroben Arten, indem er sie mit dem Bac. putrificus zu Mischinfektionen verwendete. 20 Arten ermöglichten durch ihre Anwesenheit eine rasche Entwickelung des Bac. putrificus und damit der Fäulnis. Andere Arten aber, — darunter Bact. coli und Bac. lactis aërogenes — treten der Wirkung des Bac. putrificus hindernd in den Weg; der Zerfall des Fibrins ist ein verspäteter oder unvollkommener, bleibt auch einmal ganz aus, trotzdem sich der Anaërobier gut entwickelt.

Eine dritte Gruppe von Bakterien ließ weder den Bac. putrificus sich entwickeln, noch die Fäulnis eintreten.

Während der Anaërobier allein bei seinem Zersetzungswerk nie Indol produziert, tritt solches nach Auflösung des Fibrins auf, wenn bestimmte aërobe Arten am Prozeß mitgeholfen haben.

B. prüfte weiter eine Anzahl anderer Anaërobier auf ihre Fähigkeit, Eiweiß zu zersetzen und fand, daß der Tetanusbacillus, der Bac. pseudo-oedematicus und der Bac. enteritidis sporogenes (Klein) weder für sich allein noch mit Aëroben zusammen Fibrin irgendwie beeinflussen. Dagegen zersetzen der Bac. oedematis maligni und Bac. anthrac. symptomat. Fibrin prompt, wie sie auch (Nencki und Kerry) Serumalbumin zersetzen. Ebenso, wenn auch weniger energisch, verhält sich Clostridium foetidum.

Die in den vorstehenden Versuchen liegenden Thatsachen sprechen sehr zu Gunsten der von Pasteur entwickelten Fäulnistheorie — wenigstens bezüglich der Fibrinfäulnis. Diese beruht auf der Anwesenheit obligater Anaërobier, denen aërobe Mikroorganismen durch Sauerstoffverzehrung oder anderswie den Boden vorbereiten. Ein Teil der Aëroben ist überdies imstande, das von den Anaërobiern gelöste Fibrin weiter umzusetzen; die Gruppe der indolbildenden Bakterien dürfte hierzu gehören.

Es ist nicht anzunehmen, daß die 4 Anaërobier die einzigen seien, die Fibrin zur Fäulnis bringen können. Andererseits muß einem einzelnen Bakterium die Kraft zugemessen werden, Eiweiß vollständig zu zersetzen; es müssen nur seine anaëroben Existenzbedingungen garantiert sein.

Das Verhalten des Bact. putrificus in Mischung mit Bact. coli oder Bac. aërogenes lactis ist von besonderem Interesse, weil diese Aërobier bei der Fäulnis im Darmkanal eine Rolle spielen und weil sich aus ihrer antagonistischen Wirkung vielleicht die Thatsache erklärt, daß die Fäulnis im Darm gewöhnlich lange nicht so intensiv ist, wie außerhalb des Organismus.

Spirig (St. Gallen).

Maaßen, A., Fruchtätherbildende Bakterien. (Arb. a. d. Kaiserl. Gesundh.-Amte. Bd. XV. 1899. p. 500—513. Mit 3 Taf.)

Von verschiedenen Forschern war die Beobachtung gemacht worden, daß das Aroma der Butter auf die Lebensthätigkeit von Mikroorganismen zurückzuführen ist, welche bei der Säuerung des Rahms teils als Aromabildner allein, teils gleichzeitig als Säurebildner in Aktion treten. Die Aroma erzeugenden Bakterien haben daher mit der Zeit für die Milchwirtschaft eine gewisse praktische Bedeutung gewonnen.

Verf. hat nun außer in der Kuhmilch noch in den verschiedensten Substanzen: Spreewasser, Lackmuslösung, Erde, Darminhalt, Faeces und an Getreide Spaltpilze gefunden, welche unter gewissen Bedingungen einen angenehmen Geruch nach Fruchtäther erzeugen. Die aus Milch isolierten esterbildenden Bakterien waren zugleich auch Milchsäurebildner; in ihren sonstigen biologischen Eigenschaften wiesen einige von ihnen jedoch so große Unterschiede auf, daß sie sich dadurch als nicht verwandte Arten deutlich kennzeichneten.

In vorliegender Mitteilung werden 4 Arten in ihren morphologischen und biologischen Eigenschaften beschrieben: Bacterium esterificans Stralauense n. sp., Bacillus esterificans n. sp., Bac. esterificans fluorescens n. sp. und Bac. praepollens n. sp.

Bact. esterificans Stralauense entwickelte das schwächste Aroma und die Fähigkeit der Esterbildung ging bei der Kultur auf den gewöhnlichen Nährböden mit der Zeit ganz verloren. Bacillus esterificans, eine sporenbildende Art, erzeugte in gewissen Nährmedien einen starken Fruchtäthergeruch, der eine ausgesprochene Aehnlichkeit mit dem Geruche frischer Aepfel hat. Bei Gegenwart von Pepton bildet der Bacillus Schwefelwasserstoff und Merkaptan. Glycerin und Kohlenhydrate begünstigen zwar das Wachstum, aber nicht die Esterbildung. Diese Körper werden nicht vergoren, jedoch unter Säurebildung zersetzt. Bac. esterificans fluorescens zersetzt von Kohlenhydraten nur den Traubenzucker. Die Kulturen dieser Art weisen nur in den ersten Tagen der Entwickelung ein feines esterartiges Aroma auf, das bei fortschreitendem Wachstum einem unangenehmen, fauligen trimethylaminartigen Geruche wich. Durch die Vielseitigkeit seiner physiologisch-chemischen Leistungen unterscheidet sich von allen bisher bekannten esterbildenden Bakterien Bacillus praepollens. Infolge seines energischen Peptonisierungsvermögens ist er imstande, auch in Wasser unlösliches festes und erstarrtes Eiweiß in Lösung zu bringen und zu zerlegen. Die Esterbildung ist in allen Nährböden auffallend stark vorhanden. Als Zersetzungsprodukte des Witte'schen Peptons konnte Verf. nachweisen: kohlensaures, propionsaures, baldriansaures, ameisensaures und bernsteinsaures Ammoniak, Tyrosin, Leucin, aromatische Oxysäuren, eine noch unbekannte stickstoffhaltige Säure, einen flüchtigen jodoformbildenden Körper, Schwefelwasserstoff, Merkaptan und endlich Baldriansäureester. Der Spaltpilz greift Eiweiß und Kohlenhydrate gleichzeitig an und erzeugt aus dem Eiweiß solche Mengen Ammoniak, daß die aus den Kohlenhydraten gebildete Säure alsbald neutralisiert wird und die Reaktion des Nährbodens alkalisch bleibt. Durch seine sorgfältigen Untersuchungen hat Verf. gezeigt, daß bei eiweißzersetzenden Bakterien die einfache qualitative Prüfung nicht immer genügt, um in der Kultur den Verbrauch und die Zersetzung der Kohlenhydrate festzustellen, sondern daß hierüber erst eine genaue quantitative Bestimmung der Zersetzungsprodukte sicheren Aufschluß geben kann. Bacillus praepollens zersetzt den Harnstoff und zerstört Nitrite unter Bildung von freiem Stickstoff; in der Milch erzeugt er ein sehr angenehmes und reines Aroma. Seine Leistungen in dieser Richtung sind qualitativ und quantitativ so hervorragend, daß sie die der anderen Aromabildner ganz bedeutend übertreffen.

Hinsichtlich der morphologischen Charaktere, der Wachstumsformen auf den verschiedenen Nährböden u. s. w. muß auf das mit guten Photogrammen reichlich ausgestattete Original verwiesen werden.

Busse (Berlin).

Henneberg, W., Zur Biologie des Essigaales (Anguillula aceti). (Deutsche Essigindustrie, Institut für Gärungsgewerbe, Berlin. 1899 No. 45—52. 1900 No. 1—5. Mit 10 Zeichnungen.)

Verf. stellt aus der sehr umfangreichen Litteratur die wichtigeren Angaben über das Leben des Essigälchens zusammen. Es werden im ganzen 32 Abhandlungen resp. Mitteilungen kurz referiert. Hier mag nur gesagt sein, daß Borellus (1656) der Erste ist, welcher das Essigälchen erwähnt, und daß wir Pastor Goeze, der sich 10 Jahre (1772—1782) mit diesem Tier beschäftigte, Dugès (1826) und Czernay (1849) genauere Angaben verdanken. Die Untersuchungen des Verf.'s gewinnen dadurch an Interesse, daß sie in einem Institut angestellt wurden, welches in engster Berührung mit der Praxis steht. Es konnte das Vorkommen dieser merkwürdigen Würmer in der im Institut befindlichen Versuchsschnellessigfabrik, sowie in einigen anderen Fabriken genau untersucht werden. Der Essigaal ist noch heute eine der lästigsten Plagen der Gärungsessigindustrie. Sicherlich giebt es keine Schnellessigfabrik und wohl auch keine größere Wein- oder Bieressigfabrik, die diese Tiere nicht in mehr oder weniger großen Mengen beherbergt. Diese Thatsache läßt es gerechtfertigt erscheinen, daß sehr umfangreiche Untersuchungen angestellt wurden, möglichst genau die Lebensbedingungen der Essigälchen festzustellen, um eventuell Mittel ausfindig zu machen, sie aus den Fabriken zu entfernen oder wenigstens ihre Anzahl zu verringern. Die wichtigeren, wissenschaftlich interessanten Resultate mögen hier referiert werden.

Zur Massenzucht wurden weite Schalen, die mit dünnem Essig und sauer gewordenem Bier zur Hälfte angefüllt waren, benutzt. Um die Tiere auf bequeme Weise in großen Mengen fangen zu können, wurden Korkstücke auf die Flüssigkeit gelegt, auf denen sie sich anzusammeln pflegen. Mit einer Centrifuge konnten dann die durch Wasser von den Korkstücken abgespülten Aelchen ausgeschleudert und gewaschen werden.

Zum Studium der Fortpflanzung, des Alters und der Ernährung benutzte Verf. öfters mit Vorteil Kulturen in hängendem Tropfen.

Bei der Kopulation, die wiederholentlich unter dem Mikroskop beobachtet wurde, dient der Schwanz des Männchens als Greiforgan. Die jungen Tiere werden in der Eihaut geboren, die unmittelbar darauf zerplatzt. Unter normalen Bedingungen sind die erwachsenen Weibchen beständig trächtig. Die größte Anzahl an Jungen, welche bei einem befruchteten isolierten Weibchen beobachtet wurde, war 45. Meistens waren innerhalb 8 Tagen sämtliche befruchtete Eier reif geworden und die Jungen abgesetzt. Nach der Geburt starben die alten Tiere gewöhnlich nicht. Im Bodensatz der Kulturgefäße finden sich häufig mehr oder weniger weit entwickelte abgestorbene und abgesetzte Eier, die früher die Annahme erweckten, daß das Essigälchen zu manchen Zeiten ovipar sei. Die jungen Tiere erlangen durchschnittlich in 4 Wochen die Geschlechtsreife. Männliche und weibliche Tiere waren meistens zu gleichen Teilen unter den Jungen. Es wurde beobachtet, daß einige Tiere ein Alter von 9—10 Monaten

erreichten. Bei unzureichender Nahrung blieben die jungen Tiere klein und wurden selbst nach 9 Monaten nicht geschlechtsreif. Sehr häufig sterben die Weibchen, bevor die Jungen sämtlich geboren sind. Diese sprengen dann ihre Eihaut und kriechen im Leib ihrer toten Mutter umher, so daß die letzteren noch lebend erscheinen. In einem Fall lebten 2 Junge 22 Tage in solcher Gefangenschaft. Unter günstigen Bedingungen ist die Fortpflanzung eine außerordentlich große: Nach 7 Monaten waren in Gefäßen, in die nur ein trächtiges Tier gebracht war, unzählige Mengen vorhanden. Am 24. Tag konnten 68 Nachkommen von einem isolierten Tier gezählt werden.

Essigälchen können in verschiedenen Flüssigkeiten ohne Essig, der für sie natürlich keine Nahrung ist, leben, sterben aber, sobald Fäulnis eintritt. Die Nährflüssigkeiten werden daher, da es nicht gelang, dauernd die Fäulnisbakterien auszuschließen, mit 3-proz. Essigsäure oder 12-proz. Alkohol versetzt. Als günstig erwiesen sich: destilliertes Wasser mit 2 Proz. Liebig-Fleischextrakt, destilliertes Wasser mit 2 Proz. Stärkesirup und 2 Proz. Pepton, destilliertes Wasser mit 1 Proz. Pflaumendekokt, destilliertes Wasser mit 5 Proz. Malzauszug, 7. Proz. Hefewasser, dünner Stärkekleister mit Fleischextrakt, Pferdemistdekokt etc. In nicht angesäuertem gewöhnlichen Wasser lebten nach einem Monat nur noch wenige Tiere, in angesäuertem lebten sie längere Zeit (2—$3^1/_2$ Monate). Angesäuertes destilliertes Wasser tötete die meisten bis zum 3. Tage, bis zum 15. Tage sämtliche.

Es wurde vielfach festgestellt, daß Bakterien mit Vorliebe gefressen werden und zur Nahrung dienen können. In angesäuertem Wasser mit Essigbakterienzusatz fand gute Vermehrung statt. Bakterienhaltige saure Flüssigkeiten, wie spontan essigsaures Bier, dünner Essig mit Heubacillenzusatz etc., erwiesen sich als sehr günstig. Mikroskopisch sind im Darm der Tiere Bakterien in großen Massen aufzufinden, so daß dieser an manchen Stellen ausgeweitet erscheint. Besonders geeignet zur Untersuchung dieser Frage ist Bact. Pasteurianum, das sich mit Jod blau färbt.

In stärkehaltigen Flüssigkeiten gezüchtete Tiere zeigen im Darm aufgenommene Stärke. Die größten Gerstestärkekörnchen hatten einen Durchmesser von 1,6 μ. Größere Körper, Hefezellen etc., können den engen Schlund nicht passieren, also auch nicht zur Nahrung dienen, wie durch andere Versuche bestätigt wurde. Auch in breiartigen Massen, Gerstenmalzschrot, gekochten Backpflaumen etc. mit wenig Essig leben die Aelchen gut. Die Substanzen dürfen neutral, milchsauer, buttersauer oder essigsauer sein, aber nicht alkalisch (faulig).

Alkoholische Gärung ertragen sie ohne Schaden. Die von Kahmhefen gebildeten Häute können sie durch ihre Bewegungen nicht zerstören, wohl aber die zarten Essigbakterienhäute. Wenn sie in großen Mengen vorhanden sind, können sie daher den Essigfabriken (nach dem Orleansverfahren) empfindlichen Schaden bringen.

15—16-proz. Essigsäure (verdünnter Eisessig) tötet die Tiere in 5 Stunden. In einem Essig mit 13,5 Proz. Säure, wie er in den

Schnellessigfabriken hergestellt werden kann, können sie höchstens einen Monat leben, in 12-proz. Essig $1^1/_2$ Monat. Erst in 10-proz. Essig bleiben sie am Leben, vermehren sich aber nur sehr wenig. Gute Vermehrung findet erst unter 6 Proz. Säure statt, und zwar um so besser, je weniger Säure vorhanden ist. In dem Speiseessig (ca. 3—4-proz.) vermehren sie sich daher außerordentlich gut.

Die günstigste Temperatur liegt bei 20—29° C, das Maximum (d. h. sie können noch dauernd leben) bei 34° und das Minimum bei ca. 5°. Eine Vermehrung findet unter 14° nicht mehr statt. Wärmestarre tritt bei 40° ein, Kältestarre bei 3° C. Eine Temperatur von 42—43° tötet in 5 Minuten, 44° in einer Minute. Gegen Kälte sind sie unempfindlicher: Ein 15-stündiger Aufenthalt in gefrorenem Essig tötete die Tiere nicht, in Wasser bei —20° C waren sie in 5 Stunden abgestorben.

Unter völligem Luftabschluß, unter Wasserstoff etc. sterben die Aelchen in ca. 3 Tagen, nur wenige leben noch nach 2 Wochen. Die Tiere sind also weniger luftbedürftig, als man nach ihrem Bestreben, sich stets an der Oberfläche der Flüssigkeit aufzuhalten, schließen sollte. Dies ist wahrscheinlich so zu erklären, daß sie an der Oberfläche Gelegenheit suchen, aus der Flüssigkeit herauszuklettern. Sobald nämlich die Gefäßwände feucht sind oder sich eine an der Wandung hochsteigende Pilzhaut gebildet hat, verlassen sie die Flüssigkeit und sammeln sich als weiße schleimige Masse oder, indem sie eisblumenähnliche Figuren bilden, oberhalb derselben an. Pasteur's Ansicht, daß sie durch die Essigbakterienhaut gezwungen würden, die Gefäßwände aufzusuchen, um nicht von der Luft abgeschlossen zu werden, ist also irrtümlich.

Gegen keine andere der bisher untersuchten Säuren sind die Aelchen so widerstandsfähig wie gegen Essigsäure. Weinsäure, Citronensäure, Buttersäure und Milchsäure werden in geringer Menge (0,5—1 Proz.) gut vertragen, in stärkerer Konzentration wirken sie tödlich. Ameisensäure und Oxalsäure töten schon in großer Verdünnung ziemlich schnell. Sehr giftig erwiesen sich anorganische Säuren: In destilliertem Wasser tötet 0,3 Proz. Salzsäure in 24 Stunden, 0,1 Proz. in 3 Tagen. Bei Anwendung von Essig (6,5-proz.) tötet 0,3 Proz. Salzsäure oder Schwefelsäure in 2 Tagen; bei 0,1 Proz. leben die Tiere monatelang. Besonders empfindlich sind sie gegen Natronlauge, da 0,04 Proz. in Wasser schon innerhalb 4—9 Stunden tödlich wirkt. 20-proz. Alkohol macht die Aelchen nach ca. 7 Stunden bewegungslos, werden sie nach dieser Zeit in Wasser gebracht, so erholen sie sich bald wieder. In 17,5-proz. Alkohol leben einige Tiere 3—5 Monate; erst bei 15 Proz. können sie dauernd leben und sich vermehren. 25-proz. Traubenzucker tötet in ca. 3 Stunden; 20-proz. zeigt noch nach 14 Tagen lebende Tiere und 10-proz. während der ganzen Versuchsdauer. 3-proz. Kochsalzlösung tötet in 3 Tagen sämtliche Aelchen. Von den übrigen Versuchen mag noch erwähnt werden, daß Jodlösung ein sehr starkes Gift ist, und daß dünne Sublimat- und Pikrinsäurelösung nur sehr langsam in die Tiere eindringt, da die Jungen noch lange nach dem Tod der Muttertiere Bewegungen zeigen.

Ein Druck von einer Atmosphäre (3 Tage), sowie ein elektrischer Gleichstrom von 3 Ampère (10 Minuten) haben keinen schädigenden Einfluß gezeigt. Auf plötzliche starke Beleuchtung reagieren die Tiere durch schnellere Bewegungen.

Menschlicher Magensaft bei 38—39° C (normale Magentemperatur) tötet die Aelchen erst nach mehreren Stunden. Durch die hohe Temperatur sind sie aber so geschwächt, daß sie im Körper wohl keine Störungen hervorrufen können. Im Darm werden sie durch die alkalische Reaktion sehr bald getötet werden. Wäre der Essigaal krankheitserregend, so würde dies längst festgestellt sein, da er seit vielen Jahren sehr häufig mit dem Speiseessig in den Körper eingeführt wird. Den Darm von Fröschen passieren, wie einige Versuche zeigen, die meisten, ohne Schaden zu nehmen, was auf die niedrige Körperwärme des Frosches zurückzuführen sein dürfte.

Die runden Bläschen, die sich in großer Menge in gut genährten Tieren finden, sind nach den chemischen Reaktionen fettartiger Beschaffenheit. Glykogen ist unter normalen Verhältnissen regelmäßig im Körper nachzuweisen und dürfte als Reservestoff aufzufassen sein, da es bei hungernden Aelchen verschwindet. Hunger tötet sehr langsam, indem sie ganz allmählich bewegungslos werden. In sehr alten Kulturen oder unter ungünstigen Bedingungen laufen die Fettbläschen zu einigen großen Blasen zusammen, das Glykogen schwindet, die Tiere werden ganz durchsichtig, schwimmen sehr unbeholfen und sterben allmählich ab. Durch Erwärmung oder durch Jod schnell abgetötete Aelchen sind gerade gestreckt. Nach dem Tode bildet das zusammengeflossene Fett und ein sich mit Jod blau färbender, wahrscheinlich aus dem Glykogen entstandener Körper sehr häufig lange Zeit hindurch den einzigen Inhalt der wohlerhaltenen sonst leeren Häute. Je nach Alter und Ernährung schwankt die Größe des Essigaales; die kleinsten werden im Essig von Schnellessigfabriken, die größten in bakterienhaltigen, an organischen Stoffen reichen Flüssigkeiten (Weinessig etc.) gefunden. Kürzere und breitere Exemplare wurden in sauerem Gerstenmalzbrei gezüchtet. In der Form des Oesophagus und des Schwanzes variieren die Tiere der einzelnen Zuchten etwas.

Sehr eingehend wurde das Vorkommen der Aelchen in der Versuchsessigfabrik untersucht. Sie leben in den großen Bottichen (Essigbildnern) an den Wänden und den feuchten Buchenholzspänen an solchen Stellen, an denen sie nicht von dem durchfließenden starken (bis 13,5-proz.) Essig getroffen werden. Sobald durch Schleimbildung (B. xylinum etc.) viele solcher günstigen Stellen gebildet werden oder die Essigbildung infolge irgend einer Störung nachgelassen hat, vergrößert sich ihre Anzahl bedeutend. Große Mengen Aelchen die in einen gut arbeitenden Essigbildner gebracht werden, können sich dagegen nicht so schnell ansiedeln, sondern werden sehr bald mit dem Essig herausgespült. Die Temperatur der Essigbildner stimmt an den meisten Stellen mit der für die Aelchen günstigen überein und sinkt normalerweise nicht unter 20° C. Viel häufiger sind die Tiere in

den Weinessigfabriken (nach dem Orleansverfahren), da die Ernährung günstiger, die Säure geringer ist und die längere Dauer der Essigbildung eine besonders starke Vermehrung gestattet. Man kann in diesen Fabriken an den Wänden der Bottiche über der Flüssigkeit oft einen dicken weißen Schleim sehen, der aus unzähligen Aelchen gebildet wird. Ebenso vermehren sie sich ungeheuer, wenn der Essig im Kaufladen zum Verkauf verdünnt (bis ca. 3,5-proz.) wird und in halb angefüllten Fässern lagert. Dies tritt auch ein, wenn selbst das reinste Wasser dazu verwandt wurde und die Fässer sehr sauber gereinigt waren.

In der Natur sind meines Wissens Essigälchen bisher nicht beobachtet, dürften auch kaum außerhalb des Essigs vorkommen, da sie sehr empfindlich sind gegen Fäulnis etc. In reinem Wasser, in solchem mit Algen und in Erde konnten sie nicht am Leben erhalten werden. Da der Essigaal viele sehr nahe Verwandte besitzt, die in Erde, zwischen Algen und in Moos vorkommen, so könnte es vielleicht eine an Essig angepaßte, nur im Essig sich findende Rasse (Kulturform) sein. Schon durch die geringste Menge Essigsäure starben die sich in Algen etc. findenden Anguillula-Arten, dagegen ertrugen Essigälchen, die in schwach sauerer (0,1-proz.) Flüssigkeit lange Zeit gezüchtet und plötzlich in 8,3-proz. Essig gebracht wurden, diesen Wechsel zum Teil sehr gut und blieben leben. Die Tiere können Trockenheit nicht vertragen, können daher durch Essigfliegen (Drosophila fenestrarum und funebris) etc. nicht aus einer Fabrik in eine andere übertragen werden. Von einem Bottich zum anderen in derselben Fabrik könnte dies aber geschehen, wie Versuche mit Essigfliegen zeigten. Die allgemeine Verbreitung des Essigälchens — wie oben gesagt, sind wohl sämtliche Schnellessigfabriken infiziert — wird durch das Beziehen von „Ansäuerungsessig“ für jede neu einzurichtende Fabrik aus einer älteren infizierten Fabrik erklärt. Der „Ansäuerungsessig“ zum Zweck der Beschaffung der nötigen Schnellessig- resp. Weinessigbakterien wird nach Anwendung von Bakterienreinkulturen natürlich überflüssig. Mit der Einführung von Reinkultur, der nach unseren heutigen Forschungen nichts im Wege steht, werden die Essigälchen dauernd verschwinden.

Am Schluß der Arbeit weist Verf. darauf hin, daß die Frage nach der Identität des Essigälchens mit dem von älteren Forschern oft genannten Kleisteraal wohl noch nicht endgiltig beantwortet worden ist. Daß der Essigaal in sauerem Stärkekleister zu leben vermag, beweist für die Identität nichts. Verf. konnte in Buchbinderkleister bisher keine Aelchen auffinden. Die Tiere, welche ältere Forscher als Kleisteralchen beschrieben und abbildeten, sind keine Anguillula aceti gewesen. Mit einer vom Verf. im fauligen Sphagnum gefundenen Art haben die Figuren bei Dugès große Aehnlichkeit.

Henneberg (Berlin).

Stift, A., Ueber die Bakteriose der Zuckerrübe. (Oesterreichisch-ungarische Zeitschrift für Zuckerindustrie und Landwirtschaft. 1899. p. 605.)

Die Bakteriose der Zuckerrübe, von Frank auch Rübenschwanzfäule genannt, von der nach den Untersuchungen von Kramer, Sorauer, Arthur und Golden, Busse, Frank, Stoklasa und Linhart anzunehmen ist, daß sie durch Bakterien hervorgerufen werde, hat Ende 1898 in einer Zuckerfabrik Anlaß zu unangenehmen Betriebsstörungen gegeben. Die untersuchten Rüben waren welk und besaßen vom unteren Teil der Pfahlwurzel bis zur Hälfte, die stärker erkrankten auch bis nahe zum Hals, eine schwarze oder schwärzlichgraue Farbe. Beim Durchschneiden war das Fleisch ziemlich schwarz und zeigte eine ganz eigentümliche speckige Beschaffenheit; bei manchen Rüben erschien das parenchymatische Gewebe fast vollständig zerstört. Rüben, deren oberer Teil anscheinend gesund war, zeigten farblose Schnittflächen, doch traten aus denselben nach einiger Zeit kleine Tröpfchen von hellgelber Farbe aus, die syrupartige Beschaffenheit hatten, sich ziemlich rasch schwärzten und eine tintenartige Beschaffenheit annahmen. Alle diese Erscheinungen sind für diese Krankheit charakteristisch. Die chemische Untersuchung zeigte einen ganz bedeutenden Rückgang des Rohrzuckers, bei einem beträchtlichen Anwachsen der kupferreduzierenden Substanzen (als Invertzucker gerechnet). Eine Rübe, die weniger erkrankt war, zeigte einen höheren Rohrzuckergehalt und auffallenderweise dabei aber einen so hohen Gehalt an kupferreduzierenden Substanzen, wie ein solcher selbst bei stark erkrankten Rüben nicht gefunden wurde. Diese Erscheinung muß in den durch die Krankheit eingetretenen merkwürdigen chemischen Veränderungen des Wurzelkörpers ihre Ursache haben und fehlt hierfür einstweilen eine plausible Erklärung. Auffällig ist ferner der abnorm hohe Gehalt an Thonerde in der Reinasche, wofür ebenfalls eine Erklärung fehlt. Die anderen gefundenen Zahlen sind nicht abnorm oder lassen sich wenigstens aus der Krankheit erklären. Jedenfalls geht aber aus den Untersuchungen hervor, daß sie nicht berechtigen, irgendwelche Schlußfolgerungen zu ziehen, denn die heutige Rübenpflanze ist ein Individuum subtilster Natur und bei derselben spielen die verschiedenartigsten Faktoren, wie Dünger- und Bodenverhältnisse, Einflüsse atmosphärischer Natur etc. eine derartige Rolle, daß nur ganz geringe Einflüsse dieser Faktoren alle gewonnenen Schlußfolgerungen übern Haufen werfen können.

Bei dem weiteren Verlaufe der Untersuchungen war es von Interesse zu versuchen, ob es durch Impfung gesunder und sterilisierter Rübenteile mit Teilchen der bakteriosen Rüben gelingen würde, ähnliche krankhafte Erscheinungen hervorzurufen. Die sterilisierten Rüben wurden nach der Impfung, die unter allen Vorsichtsmaßregeln erfolgte, in einer feuchten Kammer gehalten und hier weiter beobachtet. Zwei Rübenstücke wurden durch einstündiges Erhitzen auf 105—110 ° C sterilisiert, ein drittes Stück wurde 2 Stunden in destilliertem Wasser gekocht. Bei den beiden ersten Rübenstücken färbten sich die Impfstellen und nahmen eine tiefdunkle Färbung an, die nach 6 bis 7 Tagen schon tiefschwarz geworden war, wobei die Färbung strahlenförmig von der Impfstelle ausging. Aus den Impfstellen trat dann ein eigentümlicher, schleimiger Saft aus, der sich immer mehr

und mehr verbreitete und schließlich die ganze Oberfläche der Rübenstücke bedeckte. Bei einem Rübenstück schieden sich förmlich Schleimfetzen ab, die schließlich zu einer pergamentartigen Haut vertrockneten. Bei dem anderen Rübenstücke war diese Erscheinung nicht in dieser auffälligen Weise zu beobachten, denn hier trockneten die Schleimabsonderungen baldigst ein, so daß die Rübe beinahe lackartig überzogen aussah. Das durch Kochen in Wasser sterilisierte Rübenstück zeigte auch an der Impfstelle eine dunkle Färbung und waren hier zahlreiche helle Tröpfchen zu bemerken, die sich ziemlich rasch verfärbten; auch dieses Rübenstück zeigte schließlich eine Art lackförmigen Ueberzug. Sämtliche Rübenstücke vertrockneten schließlich, trotz in der feuchten Kammer befindlich, zu einer ungemein harten, schwarzen Masse. Infolge einer Studienreise des Verf.'s konnten die Rübenstücke nicht weiter untersucht werden und als dazu wieder Zeit war, hatten sich auf den Objekten so dichte Rasen von weißen und grünen Schimmelpilzen angesiedelt, daß von der beabsichtigten bakteriologischen Untersuchung Abstand genommen wurde. Jedenfalls haben aber die Impfversuche unzweifelhaft gezeigt, daß es gelungen ist, an gesunden Rübenteilen krankhafte Erscheinungen, die mit der Bakteriose gewisse Aehnlichkeit haben, hervorzurufen.

Busse hat sich seiner Zeit mit dieser Krankheit in bakteriologischer Hinsicht sehr eingehend beschäftigt und gefunden, daß dieselbe als echte Bakterienkrankheit anzusehen ist.

Er nimmt, allerdings mit Vorbehalt, an, daß der vorliegenden Krankheit ein spezifischer Erreger „Bacillus Betae" einschließend dessen Varietät β zu Grunde liege. Diese Untersuchungen waren Veranlassung, der Frage auch durch bakteriologische Untersuchungen näher zu treten und wurden dieselben durch R. Fürth ausgeführt. Aus einer bakteriosen Rübe wurden mit allen Vorsichtsmaßregeln Proben entnommen und von denselben Plattenkulturen und Strichkulturen auf Agar-Agar, Fleischpeptongelatine und Rübengelatine hergestellt. Auf den Plattenkulturen entwickelten sich in der feuchten Kammer schon am ersten Tage zahlreiche Kolonieen mehrerer (große und kleinere) Formen, von denen Klatschpräparate gemacht wurden, die zumeist Kokken nachweisen ließen, deren Charakter aber nicht weiter Gegenstand der Untersuchung blieb. Dagegen aber wurde die größte Form, ausgezeichnet durch rasche Verflüssigung der Nährgelatine, weiter untersucht und zu diesem Zwecke in Stich- und Strichkulturen rein gezüchtet. Nach den bisherigen Untersuchungen besitzt die größte Form — ausgezeichnet auch durch lebhafte Beweglichkeit im hängenden Tropfen — eine bedeutende Größe und wurde dieselbe mit 0,9—1,0 μ Breite und gegen 4 μ Länge festgestellt. Die Enden der Form sind stets abgerundet und herrscht große Neigung vor, rasch in Evolutionsformen überzugehen. Die Präparate im lebenden Zustande im hängenden Tropfen beobachtet, ergaben lebhaft bewegliche Stäbchen, zu zweien in eine Kapsel eingeschlossen, mit zarten zahlreichen Geißeln, nach Loeffler differenziert, derer Insertion noch festgestellt werden muß. Eine mit Rohrzucker versetzte Fleischpeptongelatine, die längere Zeit unter der

Einwirkung der Bakterien gestanden hatte, zeigte eine vollständige Zersetzung des Zuckers. Beim Stehen der Lösung konnte bei fortgesetzt aufmerksamer Beobachtung nicht die geringste Gasentwickelung konstatiert werden und liegt die Annahme nahe, an eine Umsetzung des Zuckers durch Hydrolyse zu denken, wofür allerdings noch jeder Beweis fehlt. In Gelatinestichkulturen beginnt die Verflüssigung schon am 2. Tage am Eingang des Stichkanals in Form einer runden Einsenkung, die sich trichterförmig fortsetzt. Die Flüssigkeit beginnt sich zu trüben und ist von zahlreichen Flöckchen durchsetzt, die allmählich zu Boden sinken, sowie ferner mit verschiedenen größeren weißen Hautstücken, die in der Flüssigkeit suspendiert bleiben. Die Plattenkulturen erscheinen bereits am 2. Tage stark verflüssigt, beginnend mit einer charakteristischen muldenförmigen Einsenkung. Auf schrägem Agar wuchert die Kultur im Brutkasten als weißer Belag mit unregelmäßiger Formation, die meist die Strichflächen einhält. Weiter bemerkt wurde nicht streng aërobes Wachstum.

Gegenüber dem Bacillus mycoides (der nach Linhart wohl nur allein die „Bakteriose" verursachen soll) differenziert sich der vorliegende Bacillus durch seine bedeutende Größe, ferner durch den Mangel an Fäden und fadenartigen Bildungen, ferner durch das Fehlen der mycelartigen Verzweigungen. Diesbezüglich finden die Untersuchungen noch ihre Fortsetzung. Kulturversuche auf Kartoffeln haben bis jetzt mit negativen Resultaten abgeschlossen; dagegen zeigten sich bei Impfversuchen auf sterilisierten gesunden Rübenstücken, im Brutkasten bei 32° C ausgesetzt, an den Impfstellen deutliche schleimartige Ausflüsse von dunkler Farbe. Hervorgehoben muß ferner werden, daß Kontrollversuche mit gesunden Rüben bisher ausnahmslos das Fehlen der beschriebenen Bakterienform ergeben haben. — Die Versuche werden weiter fortgesetzt. Dieselben haben aber jedenfalls den Beweis dafür erbracht, daß, in Einklang mit anderen Forschern, die in Rede stehende Krankheit als eine wirkliche Bakterienkrankheit anzusehen ist. Entstehung und Ursache sind allerdings noch unbekannt und dürften auch sobald nicht aufgeklärt werden. (Autorreferat.)

Untersuchungsmethoden, Instrumente etc.

Abel, R. und **Buttenberg, P.**, Ueber die Einwirkung von Schimmelpilzen auf Arsen und seine Verbindungen. Der Nachweis von Arsen auf dem biologischen Wege. [Aus dem staatlichen hygienischen Institute zu Hamburg.] (Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. Bd. XXXII. Heft 3. p. 449—490.)

Die Verff. gehen bei Behandlung ihres Themas vom hygienischen Standpunkte aus und geben im ersten Teile der Arbeit ein Sammelreferat über die Arbeiten, welche seit Gmelin erschienen sind und „Die Rolle der Schimmelpilze bei der Entstehung von Arsenvergiftungen in Zimmern mit arsenhaltiger Wandbekleidung" behandeln.

Als zweiter Teil der Arbeit findet sich eine ausführliche Darstellung „Der Nachweis des Arsens und seiner Verbindungen mit Hilfe von Schimmelpilzkulturen“. Auch hierüber ist eine Reihe von Publikationen vorhanden, deren wesentlichste Punkte durch die Arbeit der Verff. bestätigt werden. Wie Gosio haben auch die Verff. aus einer Reihe von untersuchten Schimmelpilzen das Penicillium brevicaule als den brauchbarsten Pilz für den biologischen Arsennachweis erkannt, zur Kultur verwenden sie jedoch nicht wie jener Kartoffelkeile oder Kartoffelbrei, sondern einen vor der Impfung sterilisierten Brei aus Graubrod. Bei 37^{0} entwickelt sich dann häufig schon nach 24 Stunden, immer aber nach 48—72 Stunden das Penicillium üppig, so daß in dieser Zeit die Prüfung mittels des Geruchsinnes vorgenommen werden kann. Ohne Schwierigkeit gelang es den Autoren, auf diese Art noch 0,00001 g As_2O_3 nachzuweisen, häufig war sogar noch 0,000001 g erkennbar. Am wenigsten reaktionsfähig war das metallische Arsen, von dem weniger wie 0,0001 nicht mehr deutlich nachweisbar war. Versuche mit Phosphor-, Antimon- und Wismutverbindungen, die angestellt worden waren, um zu untersuchen, ob das Penicillium nicht auch aus anderen als Arsenverbindungen nach Knoblauch riechende Gase bilde, verliefen negativ.

Interessant ist der Abschnitt über die Art der untersuchten Substanzen. Von Chemikalien wurden hauptsächlich Säuren und Laugen herangezogen, die recht gut auf biologischem Wege untersucht werden können, wenn sie vorher mit kohlensaurem Kalk resp. Wein- oder Citronensäure neutralisiert werden. Auch andere Chemikalien können untersucht werden, ausgeschlossen sind nur diejenigen, welche den Pilz am Wachstum hindern. — Die schon von Gosio und Abba gefundene Thatsache, daß die biologische Methode sich auch zum Nachweis des Arsens in Fellen und Häuten eignet, findet neuerliche Bestätigung. — Bei Tapeten, Papierservietten und Lampenschirmen wurden bei Anwendung der biologischen Methode kleinere Stücke gebraucht als bei der chemischen. Lackierte Gegenstände werden dabei am besten vorher mit Alkohol, der wieder verdunstet wird, behandelt, um dem Pilze mehr Angriffspunkte zu geben. — Gespinnstfasern und gewebte Stoffe gaben in allen Fällen, in denen ein chemischer Nachweis gelang, auch biologisch eine Reaktion. — Vogeldunst, farbige Wandtafelkreide und einige wenige Anilinfarben ergänzen die Reihe der mit Erfolg untersuchten Gegenstände.

Auch bei der Untersuchung von Nahrungs- und Genußmitteln läßt sich die biologische Methode anwenden. Positive Resultate ergaben Mehl, Milch, Fleisch, denen minimale Quantitäten (10 g Fleisch, 0,000001 As_2O_3) arseniger Säuren zugesetzt waren. Auch die arsenhaltigen Mineralwässer, wie Levico und Ronceguo, sind schon in geringen Quantitäten (50 ccm) als solche zu erkennen.

Ganz besonders gut gelangen aber die Untersuchungen der dem menschlichen und tierischen Körper entstammenden Substanzen, die unter den verschiedensten Bedingungen gewonnen und untersucht wurden. Nicht nur daß Leichenteile und Leicheninhalt herangezogen wurden, auch Versuche am lebenden Körper durch Einnahme von

Liquor Fowleri (5 Tropfen) wurden mit positiven Ergebnissen ausgeführt.

Um den chemischen Nachweis des Arsens in den aus den Schimmelkulturen entweichenden Gasen zu erbringen, eignet sich die gewöhnliche Gutzeit'sche Methode nicht. Es gelang den Autoren aber der Nachweis durch Durchleiten der Gase durch ein Röhrchen, das eine Mischung von Asbest und pulverförmigem Silbernitrat enthielt und nachherige Untersuchung im Marsh'schen Apparat. Noch besser scheint sich jedoch die Gosio'sche Methode des Durchleitens der Gase durch mit Schwefelsäure angesäuerte Kaliumpermanganatlösung zu bewähren.

Die durch das Penicillium brevicaule auf arsenhaltigen Substraten entwickelten Gase scheinen, wie das ja zu erwarten ist, giftig zu sein, wenn auch nicht alle Tierversuche dies darthun.

Wenn nun auch die biologische Methode des Arsennachweises eine quantitative Prüfung nicht zuläßt, so ist sie um so geeigneter für den qualitativen Nachweis des Arsens, weil sie

1) fast universell anwendbar ist,
2) die chemischen Methoden an Empfindlichkeit übertrifft,
3) nur aus Arsen flüchtige und riechende Stoffe bildet,
4) nicht die oft langwierige Zerstörung der organischen Substanz verlangt,
5) leicht in einer großen Reihe von Fällen zugleich anwendbar ist.

Appel (Charlottenburg).

Neue Litteratur,

zusammengestellt von

San.-Rat Dr. Arthur Würzburg,

Bibliothekar im Kaiserl. Gesundheitsamte in Berlin.

Allgemeines über Bakterien und Parasiten.

Jahresbericht über die Fortschritte in der Lehre von den pathogenen Mikroorganismen, umfassend Bakterien, Pilze und Protozoën. Bearb. u. hrsg. von P. v. Baumgarten u. F. Tangl. Jahrg. XIV. 1898. 1. Hälfte. gr. 8°. 384 p. Braunschweig (Harald Bruhn) 1900. 10 M.

Untersuchungsmethoden, Instrumente etc.

Bulloch, W., A simple apparatus for obtaining plate cultures or surface growths of obligate anaërobes. (Centralbl. f. Bakteriol. etc. I. Abt. Bd. XXVII. 1900. No. 4. p. 140—142.)

Mc Clung, C. E., The paraffin method in hot weather. (Journ. of applied microsc. Vol. II. 1899. No. 11. p. 588—589.)

Nakanishi, K., Vorläufige Mitteilung über eine neue Färbungsmethode zur Darstellung des feineren Baues der Bakterien. (Münch. med. Wchschr. 1900. No. 6. p. 187—188.)

Oméliansky, V., Sur la culture des microbes nitrificateurs du sol. (Arch. d. scienc. biolog., St. Pétersbourg 1899. T. VII. No. 4. p. 291—302.)

Scheurlen, Die Verwendung der selenigen und tellurigen Säure in der Bakteriologie. (Ztschr. f. Hygiene etc. Bd. XXXIII. 1900. Heft 1. p. 135—136.)

Wilson, E. H. and **Randolph, R. B. F.**, Bacterial measurements. (Journ. of applied microsc. Vol. II. 1899. No. 11. p. 598—599.)
Zikes, H., Ueber das Ausschleudern von Mikroorganismen unter Zuhilfenahme von Fällungsmitteln. (Oesterr. Chemiker-Ztg. 1900. No. 2. p. 26—27.)

Systematik, Morphologie und Biologie.

Bezançon, F. et **Labbé**, Du rôle de l'accoutumance dans le déterminisme des localisations microbiennes. (Compt. rend. de la soc. de biol. 1900. No. 2. p. 31—33.)
Borini, A., Associazione parassitaria ed il nuovo protozoo di Perroncito. (Giorn. d. r. accad. med. di Torino. 1899. No. 7. p. 529—532.)
Brucker, A. et **Trouessart, E.**, Seconde note sur un acarien marin (Halacaridé), parasite de l'Acanthochiton porosus. (Compt. rend. de la soc. de biol. 1899. No. 5. p. 107—109.)
Dubois, R., Sur les phénomènes électriques produits par l'activité des zymases. (Journ. de physiol. et de pathol génér. T. II. 1900. No. 1. p. 6—11.)
Effront, J., Die Diastasen und ihre Rolle in der Praxis. Deutsch von M. Bücheler. Bd. I. Die Enzyme der Kohlehydrate und die Oxydasen. gr. 8⁰. XI, 340 p. Wien (Franz Deuticke) 1900. 7 M.
Fuhrmann, O., Neue eigentümliche Vogeltänien. (Ein getrenntgeschlechtlicher Cestode.) (Zool. Anzeiger. 1899. No. 606. p. 48—51.)
— —, Deux singuliers ténias d'oiseaux (Gyrocoelia perversus n. g. n. sp., Acoleus armatus n. g. n. sp.). (Rev. suisse de zool. T. VII. 1899. Fasc. 2. p. 341—351.)
Jahresbericht über die Fortschritte in der Lehre von den Gärungsorganismen. Unter Mitwirkg. v. Fachgenossen bearb. u. hrsg. von A. Koch. Jahrg. VIII. 1897. gr. 8⁰. VIII, 303 p. Braunschweig (Harald Bruhn) 1899. 9,60 M.
Jordan, E. O., Bacillus pyocyaneus and its pigments. (Journ. of experim. med. Vol. IV. 1899. No. 5/6. p. 627—647.)
Kieffer, J. J., Beiträge zur Biologie und Morphologie der Dipterenlarven. (Illustr. Ztschr. f. Entomol. 1899. No. 23. p. 353—354.)
Klett, A., Zur Kenntnis der reduzierenden Eigenschaften der Bakterien. (Ztschr. f. Hygiene etc. Bd. XXXIII. 1900. Heft 1. p. 137—160.)
v. Linstow, Ueber die Arten der Blutfilarien des Menschen. (Zool. Anzeiger. 1900. No. 607. p. 76—84.)
Macbride, Th. H., On studying slime moulds. [First paper.] (Journ. of applied microsc. Vol. II. 1899. No. 11. p. 585—587.)
Magnus, P., Beitrag zur Kenntnis der Melampsorella Caryophyllacearum (DC) Schroet. (Ber. d. dtsch. botan. Gesellsch. 1899. Heft 9. p. 337—343.)
Rosenstiehl, A., De la multiplication de levures, sans fermentation, en présence d'une quantité limitée d'air. (Compt. rend. de l'acad. d. scienc. T. CXXX. 1900. No. 4. p. 195—197.)
Smith, F. F., Pseudomonas Stewarti. (Proceed. of the Amer. assoc. f. advanc. of science. Vol. XLVII. 1899. p. 422—426.)
Steuber, L., Beiträge zur Kenntnis der Gruppe Saccharomyces anomalus. (Ztschr. f. d. ges. Brauwesen. 1900. No. 1—3. p. 3—10, 17—25, 33—36.)
Weleminsky, J., Ueber Sporenbildung bei Dematium pullulans de By. (Sitzber. d. naturwiss.-mediz. Vereins Lotos. 1899. No. 5. p. 194—199.)

Beziehungen der Bakterien und Parasiten zur unbelebten Natur.

Luft und Wasser.

Fuller, G. W. and **Johnson, G. A.**, On the differentiation and classification of water bacteria. (Journ. of experim. med. Vol. IV. 1899. No. 5/6, p. 609—626.)
Lossen, K., Ueber die bakteriologische Selbstreinigung des Rheins. [Inaug.-Diss.] 8⁰. 20 p. Bonn 1899.
Plagge u. **Schumburg**, Beiträge zur Frage der Trinkwasserversorgung. (Veröffentl. a. d. Geb. d. Militär-Sanitätswesens, hrsg. v. d. Medizinal-Abt. d. kgl. preuß. Kriegsminist. Heft 15.) gr. 8⁰. VI, 112 p. Mit 1 Taf. u. 10 Abbildgn. im Text. Berlin (Hirschwald) 1899. 3 M.
Pfuhl, A., Ueber das Schumburg'sche Verfahren zur Wasserreinigung. (Ztschr. f. Hygiene etc. Bd. XXXIII. 1900. Heft 1. p. 53—88.)

Thomann, J., Untersuchungen über den gegenwärtigen Stand der Frage der Verunreinigung der Limmat durch die Abwässer der Stadt Zürich. (Ztschr. f. Hygiene etc. Bd. XXXIII. 1900. Heft 1. p. 1—35.)

Nahrungs- und Genußmittel im allgemeinen, Gebrauchsgegenstände.

Peglion, V. e **Mengarini, F.**, La disinfezione degli oggetti artistici di legno colpiti dal tarlo. (Bollett. di notizie agrar. 1899. No. 32. p. 1320—1323.)

Fleisch.

Johne, A., Der Laien-Fleischbeschauer. Leitfaden für den Unterricht in der Laienfleischbeschau und für die mit deren Prüfung und Beaufsichtigung beauftragten Veterinär- und Medizinalbeamten. 2. Hälfte. 8°. XVIII u. p. 191—451 m. 102 Abbildgn. Berlin 1899. 3 M.

Schwarznecker, Anleitung zur Begutachtung der Schlachttiere und des Fleisches. Zum Gebrauch für Militär-Verwaltungsbeamte zusammengestellt. 3. Aufl. Mit 13 in den Text gedr. Abbildgn. u. 8 Taf. 8°. VII, 71 p. Berlin (Mittler u. Sohn) 1899. 1,60 M.

Milch, Molkerei.

Babcock, S. M. und **Russell, H. L.**, Galaktase, das der Milch eigentümliche proteolytische Ferment, seine Eigenschaften und seine Wirkung auf die Proteïde der Milch. (Centralbl. f. Bakteriol. etc. II. Abt. Bd. VI. 1900. No. 1, 6. p. 17—21, 79—88.)

Bloch, Ueber den Bakteriengehalt von Milchprodukten und anderen Nährmitteln. (Berl. klin. Wchschr. 1899. No. 4. p. 85—86.)

Wohnungen, Abfallstoffe etc.

Weigelt, C., Kleine Beiträge zur Abwasserfrage. (Techn. Gemeindebl. 1899. No. 18, 20. p. 273—277, 310—312.)

Beziehungen der Bakterien und Parasiten zu Pflanzen.

Krankheitserregende Bakterien und Parasiten.

Berlese, A. N., Il Cladochytrium violae n. sp. Berl. e la malattia che produce. (Riv. di patol. veget. T. VII. 1899. p. 167—172.)

Cecconi, G., Seconda contribuzione alla conoscenza delle galle della foresta di Vallombrosa. (Malpighia. 1899. Fasc. 4. p. 156—172.)

Drumel, L., La carie du blé. (Laboureur. 1899. No. 39.)

Hartig, R., Lehrbuch der Pflanzenkrankheiten. Mit 280 Textabbildgn. u. 1 Taf. in Farbendr. 3. Aufl. des Lehrbuches der Baumkrankheiten. gr. 8°. IX, 324 p. Berlin (Springer) 1899. 10 M.

Legea relativa la combaterea filoxerei urmata de regulamentul pentru aplicarea acestei legi. 8°. 21 p. Bucuresci 1899.

Ludwig, Zur Bekämpfung der Schleimflüsse der Bäume. (Prakt. Blätter f. Pflanzenschutz. 1900. Heft 1. p. 5.)

Mer, E., Moyen de prévenir la vermoulure du bois. (Journ. de la soc. agricole du Brabant-Hainaut. 1899. p. 434—435.)

Ouvray, E., Etude des parasites végétaux qui attaquent les rosacées usitées en horticulture. (Bullet. de la soc. roy. linnéenne de Bruxelles. 1899. No. 7, 8.)

Potter, M. C., On a bacterial disease — white rot — of the turnip. (Excerpt from the Proceed. of the Durham philosoph. soc. 1899. Nov.) 8°. 3 p.

Rampón, C., Los enemigos de la agricultura; insectos perjudiciales, enfermedades criptogámicas, alteraciones orgánicas y accidentes, plantas nocivas. Trad. y anotada por Angel de Torrejón y Boneta. 4°. 396 p. Tetuán de Chamartín 1900. 6 Pes.

Renard, A., Les insectes nuisibles dans les missions. (Missions belges de la Compagnie de Jésus. 1899. p. 389—397.)

Rossati, G., Relazione di un viaggio d'istruzione negli Stati Uniti d'America. (Bollett. di notizie agrar. 1899. No. 27, 28. p. 951—1017, 1019—1077.)

Rostowzew, S. J., Pflanzenpathologie. Krankheiten durch Parasiten, Hemiparasiten und Epiphyten. 8°. 311 p. Mit 25 Taf. Moskau 1899. [Russisch.]
Rostrup, E., Oversigt over Landbrugsplanternes Sygdomme i 1897. (Tidsskr. f. Landbrug. planteavl Femte Bind. 1899. p. 113—137.)
Rostrup, E., Contributions mycologiques pour les années 1897 et 1898. (Botan. Tidsskr. 1899. Hefte 3. p. 277—279.)
Schreiber, P., Le puceron lanigère. (Amateur d. jardins. 1899. p. 63.)
Smith, E. F., Wilt disease of cotton, watermelon and cowpea (Neocosmospora n. g.). (U. S. Departm. of agricult. Divis. of veget. physiol. and pathol. 1899. Bull. No. 17.) 8°. 53 p. Washington 1899.
Thomas, E., La carie des céréales. (Landbouwbl. van Limburg. 1899. p. 416—417.)
Van den Berck, L., Moyen de prévenir la vermoulure du bois. (Belgique hort. et agric. 1899. p. 173.)
Weber, Die Bekämpfung der Kiefernschütte im Regierungsbezirke der Pfalz. (Forstwissensch. Centralbl. 1899. Heft 12. p. 625—634.)
Webster, F. M., Some recent developments in the San José scale problem in Ohio. (Proceed. of the soc. f. the promot. of agricult. science. 1898/99. p. 112—119.)
Weifs, Die Blattfallkrankheit der Johannisbeersträucher (Gloeosporium Ribis). (Prakt. Blätter f. Pflanzenschutz. 1900. Heft 1. p. 1—3.)

Entwickelungshemmung und Vernichtung der Bakterien.

Mengarini, F., Sull' azione anticrittogamica dell' anidride carbonica libera. (Bollett. di notizie agrar. 1899. No. 32. p. 1313—1316.)
— —, Azione anticrittogamica ed insetticida del monossido di carbonio sulle cocciniglie degli agrumi. (Ibid. p. 1317—1318.)
— —, Azione anticrittogamica dei vapori di formaldeide. (Ibid. p. 1319—1320.)

Inhalt.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.

CENTRALBLATT
für
Bakteriologie, Parasitenkunde u. Infektionskrankheiten.
Zweite Abteilung:
Allgemeine, landwirtschaftlich-technologische Bakteriologie, Gärungsphysiologie, Pflanzenpathologie und Pflanzenschutz.
In Verbindung mit
Prof. Dr. Adametz in Wien, Prof. Dr. J. Behrens in Karlsruhe i. B., Prof. Dr. M. W. Beijerinck in Delft, Geh. Regierungsrat Prof. Dr. A. B. Frank in Berlin, Dr. v. Freudenreich in Bern, Privatdocent Dr. Lindau in Berlin, Prof. Dr. Lindner in Berlin, Dr. Morris, Chef des Hansen-Laboratory, Jenner-Institute of Preventive Medicine in London, Prof. Dr. Müller-Thurgau in Wädensweil, Dr. Erwin F. Smith in Washington, D. C., U. S. A., Prof. Dr. Stutzer in Breslau, Prof. Dr. Wehmer in Hannover, Prof. Dr. Weigmann in Kiel und Prof. Dr. Winogradsky in St. Petersburg
herausgegeben von
Dr. O. Uhlworm in Cassel
und
Prof. Dr. Emil Christian Hansen in Kopenhagen.
Verlag von Gustav Fischer in Jena.
VI. Bd. Jena, den 31. März 1900. No. 7.
Jährlich erscheinen 26 Nummern. Preis für den Band (Jahrgang) 20 Mark.
Preis für eine einfache Nummer 75 Pfg., für eine Doppelnummer 1 Mark 50 Pfg.
Nummern mit Tafeln kosten für jede Tafel 50 Pfg. mehr.
Hierzu als regelmäfsige Beilage die Inhaltsübersichten der I. Abteilung des Centralblattes.

Original-Mitteilungen.

Schwefelwasserstoffbildung in den Stadtgräben und Aufstellung der Gattung Aërobacter[1].

Von **M. W. Beijerinck.**

Bei einer früheren Gelegenheit[2]) habe ich die Entdeckung eines obligat-anaëroben, nicht sporenbildenden Spirillums beschrieben, welches sich als das Agens der Sulfatreduktion in unseren Stadt-

1) Ich verwende hier das Wort „Schwefelwasserstoff", um sowohl die Entstehung dieses Körpers, wie diejenige von anderen Sulfiden zu bezeichnen, welche flüchtig sind und Bleiacetat in Schwefelblei überführen.

2) Centralbl. f. Bakt. 2. Abt. Bd. I. 1895. p. 1. — Akademie der Wissensch. zu Amsterdam. 1895. — Archives Neërlandaises. T. XXIX. 1896. p. 233.

gräben herausgestellt hat, und dem ich darum den Namen Spirillum desulfuricans gab. Ich habe dann zu gleicher Zeit den Kreislauf des Schwefels in der Natur betrachtet und gezeigt, daß der biogene Schwefelwasserstoff noch auf drei andere Weisen entstehen kann, nämlich durch Abspaltung aus Eiweißkörpern, ferner unmittelbar aus freiem Schwefel und schließlich aus Sulfiten und Thiosulfaten. Sowohl Schwefel wie die niederen Sauerstoffverbindungen desselben gehen mit außerordentlicher Leichtigkeit durch den Kontakt mit gewissen Mikroben in Schwefelwasserstoff über. Man braucht diese Körper nur in eine in Alkoholgärung befindliche Zuckerlösung zu bringen, um sich davon zu überzeugen. Dagegen ist, wie gesagt, die Sulfatreduktion ein durchaus spezifischer Vorgang, welcher nur von einem bestimmten Erreger herrührt und durch die gewöhnlichen Bakterien nicht zustande gebracht werden kann[1]).

Natürlich betrachte ich es als möglich, daß allerlei Bakterien, im Falle dieselben aus schwefelhaltigem Protoplasma bestehen sollten, eben für das Schwefelbedürfnis Sulfate würden zerlegen können, wodurch, nach dem Absterben, Schwefelwasserstoff aus dem festen Eiweiß derselben abzuspalten wäre. Doch zeigten die in dieser Richtung ausgeführten Versuche mit Essigbakterien einerseits, mit Bacterium coli commune und B. lactis aërogenes andererseits, daß in Nährflüssigkeiten, worin der Schwefel so vollständig wie möglich ausgeschlossen war, ein ebenso kräftiges Wachstum derselben stattfinden konnte, als wenn darin zu gleicher Zeit Schwefelverbindungen dargeboten wurden, so daß es wenigstens den Anschein hat, als ob das Protoplasma dieser Bakterien schwefelfrei ist. Dennoch betrachte ich diese Frage nicht als erledigt.

In meiner Abhandlung über Sulfatreduktion habe ich gesagt, daß ich es für möglich hielt, daß aus dem Sulfat neben Schwefelwasserstoff zugleich etwas Sulfit oder Thiosulfat entstehen könnte. Auf Grund von besseren Kenntnissen des Vorganges glaube ich jedoch gegenwärtig schließen zu müssen, daß dem nicht so ist: alles Sulfat verändert bei der Reduktion in Schwefelwasserstoff selbst oder in Verbindungen, welche mit Salzsäure soviel Schwefelwasserstoff abspalten, wie dem verschwundenen Sulfat entspricht. Das Zuwenig an Schwefelwasserstoff, welches ich damals bei der jodometrischen Methode fand, muß wohl der Hauptsache nach nur abgeschiedenem Schwefel zugeschrieben werden, was ich damals schon als wahrscheinlich hinstellte, nun aber als sicher erwiesen betrachte.

Die biologische Bedeutung der Sulfatreduktion, d. h. die Frage nach dem Nutzen, welchen die spezifischen Mikroben dieses Vorganges durch ihre Arbeit erreichen, in dem gewaltigen Umfange, wie sie z. B. in den niederländischen Aestuarien in Erscheinung tritt, ist mir vorläufig rätselhaft. Vielleicht handelt es sich hierbei um die

1) Wie wenig die Frage der Sulfatreduktion, trotz meiner Untersuchung, noch verstanden wird, sehe ich nun wieder aus der Wochenschr. f. Brauerei. Jahrg. XVI. 1899. p. 688, wo Herr Windisch behauptet, die Bierhefe soll aus Gyps Schwefelwasserstoff erzeugen. Diese Meinung ist ganz verfehlt. Hefe reduziert Sulfate durchaus nicht; selbst vermag sie nicht einmal Nitrate in Nitrite umzuwandeln. Doch erzeugt sie mit großer Leichtigkeit Schwefelwasserstoff aus Sulfiten, Thiosulfaten und Schwefel.

Schaffung eines Mediums, welches eine außerordentliche Affinität für freien Sauerstoff hat und dadurch die Tension dieses Gases, welches durch Strömung und Wellenschlag in die Tiefe geführt wird, so weit herabsetzt, daß die Mikroaërophilie des „anaëroben" Sulfatfermentes eben befriedigt wird. Ich bin nämlich überzeugt, daß auch hier Mikroaërophilie existiert und der gebundene Sauerstoff des Ferrosulfates an und für sich das Bedürfnis an freiem Sauerstoff nicht decken kann[1]). Vielleicht werde ich später Gelegenheit haben, auf die biologisch und geologisch sehr wichtige Erscheinung der Schwefelwasserstoffbildung in den Aestuarien zurückzukommen.

1. Schwefelwasserstoffbildung in den Stadtgräben.

Obschon die Sulfatreduktion, welche sowohl im süßen wie im Meereswasser stattfindet, bei weitem den Hauptteil des in der Natur vorkommenden Schwefelwasserstoffs erzeugt, ist es doch unzweifelhaft, daß dieser Körper in den Stadtgräben nicht nur aus Sulfaten, sondern ebenfalls aus eiweißartigen Körpern und aus freiem Schwefel entsteht. Die Eiweißkörper werden darin teilweise eingeführt mit den Abwässern der Häuser, anderenteils durch das Absterben der lebenden Organismen. Besonders die an der Oberfläche der Gewässer erzeugten und dort verdunstenden Sulfiden müssen als aus Eiweiß und Schwefel herkünftig betrachtet werden, während die Sulfatreduktion mehr auf dem Schlamme in der Tiefe beschränkt bleiben wird, weil nur dort dauerhafte Anaërobiose und damit das Leben von Spirillum desulfuricans gesichert ist. Der auf die eine oder andere Weise in der Tiefe gebildete Schwefelwasserstoff wird auf seinem Gange nach oben gelöstem Sauerstoff begegnen und dadurch zur Absonderung von Schwefel veranlassen, wozu auch, wie ich früher ausgeführt habe, Ferrisalze beitragen müssen. Dieser Schwefel wird aber wieder sehr leicht in Schwefelwasserstoff zurückverwandelt und zwar, wie wir sehen werden, von denselben Bakterien, welche einen besonders regen Anteil an der Sulfidbildung aus Eiweißkörpern nehmen.

Wenn die Quantität der organischen Körper im Schlamme sehr groß ist, wie z. B. in den Stadtgräben zu Delft, wo Gerbereien und Brennereien ihre Abwässer seit langer Zeit darin geleert haben, so sind die Lebensbedingungen für die gewöhnlichen Anaëroben der Eiweißfäulnis gegeben, während Spirillum desulfuricans, infolge der Anhäufung organischer Körper, zurücktritt. Von den bei der Eiweißfäulnis in Betracht kommenden Arten habe ich die drei wichtigsten (Proteobacter septicum, P. skatol, P. pseudopulcher) bei einer anderen Gelegenheit besprochen[1]). Es hat sich ergeben, daß diese Mikroben nicht nur Schwefelwasserstoff erzeugen, sondern auch die entsetzlichen Sulfiden der Mercaptangruppe.

Inzwischen steht es fest, daß im Wasser der Stadtgräben zu viel Sauerstoff gelöst ist, um die wahre Eiweißfäulnis zu ermöglichen, und ebenso sicher ist es, daß dennoch aus jenem Wasser, und zwar aus den oberflächlichen Schichten desselben, unter dem Einfluß der

1) Das Nähere über die Mikroaërophilie der Anaëroben und über Eiweißfäulnis in meiner Abhandlung „Les Anaërobies et l'Oxygene libre" in Archives Neêrlandaises. Sér. 2. T. II. 1899.

Mikroben, die Eiweißkörper unter Schwefelwasserstoffbildung verschwinden. Die hier in Betracht kommenden Formen müssen also Aëroben oder fakultative (besser temporäre) Anaëroben sein und bei beschränktem Luftzutritt die genannte Zersetzung bewirken.

Es ist deshalb nicht unwichtig, die Frage zu beantworten, zu welcher Art oder Arten diese Mikroben vorzugsweise gehören, die dadurch hervorgerufene Schwefelwasserstoffbildung auch bei Luftzutritt sichtbar zu machen, und zwar in der Weise, daß die Bestimmung der Zahl der Sulfidbildner in einer gegebenen Wasserprobe ermöglicht wird.

2. Die „Bleiweißprobe".

Die Lösung dieser Aufgabe fand ich in einer Versuchseinrichtung, welche ich als „Bleiweißprobe" bezeichnen will. Es hat sich nämlich herausgestellt, daß Bleiweiß (Bleicarbonat), wenn es den gewöhnlich schwach alkalischen Nährstoffen für Bakterien zugesetzt wird, das Wachstum derselben nur wenig beeinträchtigt, besonders die schwefelwasserstofferzeugenden ergeben sich als kaum empfindlich für das Salz, vielleicht eben deshalb, weil dasselbe, soweit es sich löst, dadurch sofort in unlösliches und unschädliches Schwefelblei verwandelt wird. Allerdings werden gewisse langsam wachsende Wasserbakterien, welche selbst auf gewöhnlichen Fleischgelatineplatten nur spät und schwierig wachsen und bei den gewöhnlichen Wasseruntersuchungen nicht oder nur zum Teil in Betracht kommen, durch das Blei in ihrem Wachstum benachteiligt, doch wird dadurch der Wert des Versuches natürlich nicht geschädigt. Dieser kann, wie folgt, ausgeführt werden.

Der gewöhnlichen Fleischgelatine oder Fleischagar wird soviel Bleiweiß zugesetzt, daß nach dem Ausgießen eine gleichmäßig schneeweiße Platte entsteht. Wird darüber mit sterilisiertem Wasser verdünntes Grabenwasser gegossen und bei 23° C kultiviert, so werden nach ein paar Tagen alle sulfidbildenden Keime als braune, die nicht sulfidbildenden als ungefärbte Kolonieen sichtbar. Da das in den braunen Kolonieen abgesetzte Schwefelblei luftbeständig ist, ist dieser Zustand ein dauernder und sich allmählich schärfer ausprägender. Striche, von den sulfidbildenden Kolonieen auf neue Bleiweißplatten gezogen, werden sich ähnlich verhalten und zu tiefbraunen Kulturen auswachsen. In den etwas älteren Kulturen, worin die Kolonieen schon groß genug sind, um beim Luftabschluß, infolge ihrer temporären Anaërobiose, weiter zu funktionieren, kann die Bildung des Schwefelbleies noch viel intensiver gemacht werden dadurch, daß man die Kolonieen durch eine auf die Gelatine gepreßte Glasplatte bedeckt, wodurch die bei den unbedeckten Kolonieen immer stattfindende Verflüchtigung oder Oxydation eines Teiles des Schwefelwasserstoffes verhindert wird. Obwohl dabei leicht mehrere Kolonieen durch einander fließen, ist es doch zu empfehlen, einen Teil der Kulturplatte auf diese Weise zu untersuchen. Nur wenn die Kolonieen imstande sind, Säure zu erzeugen, was z. B. dann der Fall ist, wenn in den Platten Zucker vorkommt, hört das Wachstum derselben, infolge der Entstehung löslicher, giftiger Bleisalze, bald auf. Die Kohlensäure hat jedoch auf die Erscheinung keinen nachteiligen Einfluß.

Die direkte Aussaat, z. B. von verdünntem Grabenwasser auf eine Bleiweißplatte, giebt ein ebenso einfaches wie übersichtliches Resultat, und was dabei sofort sichtbar wird, ist die Thatsache, daß eine ganze Anzahl Bakterienarten Sulfiderzeuger sind. Darunter fällt durch ihre Allgemeinheit im Grabenwasser eine Gruppe von Arten ganz besonders ins Auge, nämlich die Gruppe der eigentlichen temporär (fakultativ) anaëroben Gärungsbakterien, wovon wieder B. coli commune, sowohl durch Anzahl wie durch Intensität der Sulfidbildung, sich ganz besonders hervorhebt. Dann folgt in der Skala das etwas seltenere, jedoch immerhin noch recht allgemeine B. lactis aërogenes, welches durch eine Reihe von Mittelformen, welche ebenfalls starke Gärungserreger und thätige Sulfidbildner sind, mit B. coli commune verbunden ist.

Obschon diese Bakterien auch sehr allgemein in Garten- und Ackererde vorkommen und beim Trocknen nicht absterben, so glaube ich doch, daß sie sich im Moder und Wasser der Stadtgräben reichlich genug vermehren können, um als zur „Wasserflora“ gehörig betrachtet werden zu müssen.

Untersucht man nicht zu geringe Mengen Grabenwasser vermittelst der Bleiweißprobe, so sieht man, daß noch eine große Menge anderer Arten echte Sulfidbildner sind und manche darunter erzeugen individuell noch mehr Schwefelblei, wie z. B. B. coli commune selbst. Dennoch ergiebt sich aus ihrer relativ geringen Verbreitung, daß sie in Bezug auf die gesamte Schwefelwasserstoffproduktion nur untergeordnete Bedeutung besitzen. Manche davon kommen vom Lande her und sind durch den Regen in die Wasserläufe geführt und gehören also zur Landflora.

Obschon ich mir wohl bewußt bin, daß viele Mikrobenarten auf den Bleiweißplatten nicht zur Entwickelung gelangen, Spirillen z. B., welche auch auf den gewöhnlichen Fleischplatten ohne Blei nur schwierig wachsen, konnte ich niemals darauf finden, so kann es doch nicht bezweifelt werden, daß die eigentlichen temporär-anaëroben Gärungsbakterien an jenem Vorgang wirklich den Hauptanteil nehmen, und da es sich hierbei nur um eine gut umschreibbare Formengruppe handelt, welche sich auch durch eine Reihe anderweitiger Merkmale auszeichnet, so scheint es angezeigt, dieselben in einer gemeinsamen Gattung, Aërobacter, zusammenzufassen. Hierbei glaube ich, eine wirklich natürliche Gattung aufzustellen, deren Glieder nahe genealogische Verwandtschaft besitzen. Ganz anders also, wie der früher von mir als „physiologischer Gattungsname“ gewählte Ausdruck Photobacter, worin wenigstens 3 nicht verwandte Formengruppen künstlich vereinigt wurden. Ganz anders ebenso, wie die „Gattungen“ Bacillus, Bacterium, Sarcine etc., welche alles Mögliche umfassen können.

Ehe ich zur Betrachtung der neuen Gattung fortschreite, ein Wort über diejenigen Formen, welche bei der Bleiprobe kein Schwefelblei erzeugen. Darunter fällt Bacillus fluorescens liquefaciens sowohl durch seine Allgemeinheit im Grabenwasser, wie durch das üppige Wachstum der Kolonieen zunächst ins Auge. Auch die Mehrheit der Varietäten von B. fluorescens non lique-

faciens, welche ebenfalls im Grabenwasser sehr allgemein sind, erzeugen kein oder nur sehr wenig Sulfid. Doch glaube ich kaum, daß diese Bakterien zu der eigentlichen Wasserflora gehören, denn sie sind so sauerstoffbedürftig, daß sie darin nur relativ selten Gelegenheit zur Vermehrung finden werden. Die Mehrheit derselben dürfte vom Lande her in die Wasserläufe gespült werden, was für Aërobacter gewiß nicht zutrifft. Eine dritte nicht sulfidbildende Art, welche ich noch nicht determinierte und die auf den „Bleiweißplatten" als weiße, weiche, nicht verflüssigende Kolonieen von Kurzstäbchen wächst, ist interessant, da sie noch allgemeiner ist wie Coli, und wohl ohne Zweifel zur Wasserflora gehört.

Doch kehren wir zur Gattung Aërobacter zurück, welche für unseren Zweck nun weiter allein in Betracht kommt.

3. Aufstellung der Gattung Aërobacter.

Bacterium coli commune und B. lactis aërogenes wurden im Jahre 1886 von Escherich aus dem Säuglingsdarm isoliert und als besondere Arten aufgestellt [1]). Seitdem ist über diese Bakterien, besonders über die erste, eine umfassende Litteratur entstanden, wobei es sich ergeben hat, daß beide Arten unter zahlreichen Varietäten vorkommen, welche zum Teil intermediär sind. Mir sind aus eigener Erfahrung noch einige Formen bekannt geworden, welche genügend von den beiden Arten verschieden sind, um Artdifferenz anzunehmen; andererseits fand ich neue Varietätenreihen, welche die von mir unterschiedenen Arten beinahe kontinuierlich miteinander und den beiden genannten verbinden. Ich bin demzufolge zur vollen Ueberzeugung der verwandtschaftlichen Beziehungen in dieser Gruppe gelangt, welche ich für eine sehr natürliche halte und die sich so deutlich von der übrigen Bakterienwelt hervorhebt, daß ich die Zusammenfassung der Arten und Varietäten zu einer gemeinsamen und natürlichen Gattung, Aërobacter, für notwendig halte.

Aërobacter. An Zuckerlösungen adaptierte temporär-anaërobe Gärungsbakterien, welche alle Glukose und Lävulose vergären, wobei durch das polarisierte Licht gewöhnlich linksdrehende Milchsäure und beinahe immer auch Gas entsteht. In Bezug auf die aus den verschiedenen Zuckerarten gebildeten Gasmengen verhalten die verschiedenen Species sich verschieden. Das Gas ist ein Gemisch von Kohlensäure und Wasserstoff, wozu eine geringe Menge Schwefelwasserstoff kommt, wenn neben Zucker Eiweiß, Schwefel oder niedere Schwefelsauerstoffverbindungen in der Nahrung vorkommen. Charakteristisch ist der von freiem Schwefel herrührende Perlmutterglanz der Kulturen auf Fleisch- und Würzegelatine. Sulfate werden durchaus nicht reduziert, dagegen verwandeln alle Arten Nitrate leicht in Nitrite, nicht in Ammon. Die Nitrate hemmen schon in geringer Menge die Gärung vollständig, ohne das Wachstum zu beeinträchtigen [2]). Fleischwasser und Fleischgelatine werden sofort alkalisch,

---

1) Escherich, T., Die Darmbakterien des Säuglings. Stuttgart 1886. p. 57 und 63.

2) Hierauf beruht der Salpetergebrauch im Käsereibetriebe zur Vorbeugung der

bei Gegenwart von Zucker jedoch erst dann, wenn die gebildete Milchsäure durch das Alkali neutralisiert ist. Pflanzenextrakte verändern ebenfalls bei der Aërobactergärung ihre Reaktion von sauer in alkalisch. Alle Arten können scharf getrocknet werden, ohne zu sterben. Sporenbildung wurde nicht beobachtet, jedenfalls sterben alle Arten durch Pasteurisieren auf 65° C. Bewegung wird oft beobachtet, kann aber fehlen. Bei A. aërogenes sind die Cilien über die ganze Oberfläche verteilt (peritrich), bei A. liquefaciens kommt nur eine polare Cilie vor (monotrich). Einzelne Arten produzieren viel Trypsin; Diastase wird niemals erzeugt. Auch Invertin und Glukase scheinen gänzlich zu fehlen, so daß Rohrzucker und Maltose direkt (katabolitisch)[1]) vergoren werden. Im Bakterienkörper wird, wenn assimilierbarer Zucker vorliegt, Glykogen angehäuft, welches sich mit Jodjodkalium tief violettbraun färbt. Bei frischen Isolierungen auf Würzegelatine färben die Kolonieen von A. coli var. infusionum sich oft tiefblau durch Gehalt an Granulose, doch verändert diese Reaktion bei Ueberimpfung immer in die gewöhnliche braune Glykogenreaktion. Durch ihr Verhalten zum Sauerstoff und durch die Glykogenreaktion erinnert Aërobacter lebhaft an die echten Alkoholhefen. Die besten Stickstoffquellen sind Pepton und Asparagin. Aus Asparagin allein, ohne weitere Kohlenstoffquelle, findet beschränktes Wachstum statt. Die sogenannte „Indigogärung" rührt von Aërobacter her, obschon in solchen Gärungen noch mehrere andere Bakterienarten vorkommen, welche in untergeordnetem Maße an der Indigobildung mitwirken. Diese Gärung beruht auf der Spaltung des Indicans (d. h. des Indigoglukosids), wobei dieser Körper zerlegt wird in Indoxyl (C^8H^7NO) und Glukose; bei Luftzutritt verwandelt sich das Indoxyl in Indigoblau ($C^{16}H^{10}N^2O^2$), und zwar in alkalischer Lösung mit großer Intensität, während die Glukose, unabhängig ob Luft abwesend oder gegenwärtig ist, unter Bildung von Wasserstoff und Kohlensäure vergärt. Für die Einrichtung dieser Gärung ist es zweckmäßig, ein Dekokt von Polygonum tinctorium oder von Indigofera leptostachya zu verwenden, welche Pflanzen in unseren Gärten gut fortkommen und viel Indican enthalten. Nur die aus Faeces isolierte Form, A. coli var. commune, wirkt langsam oder nicht auf Indican und ist daran erkennbar. Die Indicanspaltung ist ein katabolitischer Vorgang, d. h. daß kein Indigoenzym dabei in Betracht kommt, so daß die toten Bakterien inaktiv sind.

Das Temperaturoptimum für das Wachstum von Aërobacter liegt bei ca. 28° C; bei 37° C ist das Wachstum sehr beeinträchtigt oder ganz gehemmt.

Für die Diagnose der Arten ist die Kultur auf Würzegelatine mit oder ohne Indican besonders zu empfehlen. Für die Feststellung des sehr verschiedenen Verhaltens der Arten und Varietäten bezüglich Rohrzucker, Maltose und Laktose empfiehlt es sich, diese Zucker

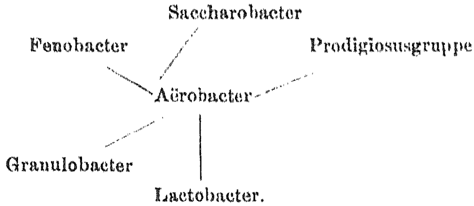
---

Gasbildung durch Aërobacter (holländisch „Rijzers"). Schon 0,05 Proz. in Bezug auf das verwendete Milchgewicht ist wirksam.

1) Das heißt durch Kontaktwirkung des lebenden Protoplasmas. (Siehe Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. II. Bd. V. 1899.)

zu 8 Proz. in Hefenwasser zu lösen und im „Gärungskölbchen“ zu untersuchen.

Die nächstverwandten Gattungen sind unter den Aëroben die Heupilze (Fenobacter) und Zuckerbakterien (Saccharobacter wozu die verschiedenen Formen von Bacillus megatherium und B. hortulensis gehören) einerseits, die Prodigiosusgruppe (über deren Gattungsumgrenzung ich noch unsicher bin) andererseits; unter den Anaëroben die Buttersäurefermente (Granulobacter). Weniger nahe verwandt sind die echten Milchsäurefermente, welche alle[1]) zu der natürlichen Gattung Lactobacter gebracht werden können. Diese Verwandtschaften lassen sich schematisch, wie folgt, angeben:



Die am besten untersuchten Arten sind folgende:

1) Aërobacter aërogenes (= Bacillus lactis aërogenes Escherich), Stäbchen von sehr verschiedener Länge, bisweilen äußerst kurz und mikrokokkenartig; selten beweglich und dann peritrich. Erzeugt auf Würzegelatine große weiße oder gelbe, weiche (nicht zähe) Kolonieen, welche erst beim Absterben die Gelatine verflüssigen oder dieses überhaupt nicht thun. Zahlreiche Varietäten, welche man u. a. durch folgenden Accumulationsversuch erhalten kann. Gemahlener Roggen wird mit destilliertem Wasser in einem Becherglase zu einem dicken Brei gemacht und bei 28° C gestellt. Nach 12 Stunden findet darin eine gewaltige Aërogenes-Gärung statt, welche bei Aussaat auf Würzegelatine die Hauptvarietäten von A. aërogenes entweder allein oder gemischt mit verschiedenen Varietäten von A. coli liefert. Läßt man die Gärung länger fortdauern, so entstehen darin Milchsäurefermente (Lactobacter), welche die Aërogenes-Formen verdrängen. Auch in Pflanzeninfusen, mit Erde infiziert, kann durch wiederholte Ueberimpfung Accumulation, selbst Reinkultur, erhalten werden. Findet sich auch sehr allgemein in Milch, besonders in schwach sauerer, jedoch nicht zu alter Milch, sowie im Boden, im Wasser und im Moder der Gräben. Vergärt sowohl Rohrzucker wie Laktose und Maltose mit großer Intensität.

2) Aërobacter viscosum. Wie vorgehende Art, erzeugt jedoch außerordentlich zähe Kolonieen auf Würzegelatine und auf Rohrzuckerboden, gehört demnach zu den typischen und besten Schleimbakterien. Starke Gärung in Würze- und anderen Zuckerlösungen, wobei sowohl Rohrzucker und Maltose wie Laktose vergären. Besteht aus Diplokokken oder Kurzstäbchen mit Glykogenanhäufung in den Polen, nicht in der Mitte, deshalb nur schwache Braunfärbung mit Jod. Ist bewegungslos. Wurde isoliert aus den oben besprochenen

1) Sowohl die Stäbchen wie die Diplokokken und die Mikrokokken.

Aërobacter-Gärungen, wenn dafür Roggen verwendet wurde, welcher herkünftig war von der Donau oder dem Schwarzen Meere; nicht aus nordischen und niederländischen Roggen erhalten.

3) Aërobacter coli. Diese Art umfaßt viele Varietäten, welche zum Teil aus Faeces, besonders von Säugetieren, isoliert sind, anderenteils auch im Spülwasser und in den Stadtgräben erkannt wurden. Die bestbekannte Varietät ist A. coli var. commune Escherich. Die Form aus Menschenfaeces ist ziemlich gut charakterisiert durch ihr sehr schwaches Vermögen, Indican zu zersetzen, und durch Bildung eines gelben Farbstoffes in Kartoffelkulturen. Auf Würze- und Fleischgelatine entstehen die bekannten, am Rande ausgeschnittenen, glasartig durchsichtigen, flachen Kolonieen. Erzeugt Wasserstoff und Kohlensäure in Würzelösungen. Hauptgegenstand der umfangreichen und verwickelten Coli-Litteratur. Einige Varietäten produzieren kein Gas in Würze und sind dann leicht mit Typhus zu verwechseln, wovon sie jedoch gänzlich verschieden sind[1]).

A. coli var. infusionum[2]). Wächst auf Würze- und Fleischgelatine genau so wie A. coli var. commune, womit diese Varietät in der Litteratur vielfach verwechselt wird, ist jedoch kräftiger und viel reicher an Glykogen, wodurch die Kolonieen auf Würzegelatine sich mit Jod tief violettbraun färben, in manchen Fällen selbst rein blau, wie schon unter der Gattungsdiagnose erwähnt. Besonders allgemein in den Abwässern von Rübenzuckerfabriken und in Pflanzeninfusen, im Röstwasser des Flachses, im Spülwasser der Häuser, in Milch mit A. aërogenes, in den spontanen Mehlgärungen. Mit A. aërogenes, die wichtigste Bakterie der sogenannten Indigogärung, ist deshalb leicht anzuhäufen in den Dekokten von Indigofera leptostachya und Polygonum tinctorium, welche mit Erde infiziert und dann wiederholt übergeimpft werden. Gewissermaßen die Urform der Aërobacter-Gruppe, was daraus hervorgeht, daß veraltete Kulturen anderer Arten (wie z. B. von A. aërogenes und A. viscosum) bisweilen, durch Atavismus, Kolonieen erzeugen, welche sich nicht von A. infusionum unterscheiden lassen.

4) Aërobacter liquefaciens. Diese Art verflüssigt sowohl Würze- wie Fleischgelatine mit großer Intensität, und gehört zu den kräftigsten Gärungserregern in Malzwürze, welche es überhaupt giebt. Es sind schnell bewegliche Kurzstäbchen mit einer polaren, schwierig färbbaren Geißel. Findet sich ziemlich selten im Moder der Stadtgräben, allgemein in gewissen Sümpfen und wurde von mir auf folgende Weise erhalten. Trockene, in der Apotheke gekaufte Rhizome von Althaea officinalis werden in Stücke geschnitten, mit Wasser übergossen, in ein Reagenzröhrchen bei 28° C gestellt und 1—2 Tage sich selbst überlassen. Es entsteht ein dicker Schleim, welcher in heftige Gärung gerät und mehrere Varietäten von A. aëro-

1) Typhus gehört, nach meiner Ansicht, zu einer anderen Gattung, wozu ebenfalls Bacterium Zopfii Kurth zu bringen ist.

2) Obschon ich glaube, daß diese Form genügend charakterisiert ist, um Artrecht zu beanspruchen, veranlaßt die Litteratur, dieselbe vorläufig als Varietät von Coli einzureihen.

genes, besonders aber von A. liquefaciens bei Aussaat auf Würzegelatine liefert. Auch bisweilen in Indigogärungen gefunden. Gärungsvermögen wie bei A. aërogenes.

Für die Differentialdiagnose der Arten und Varietäten ist das Maß der Vergärung und des Wachstums in Bezug auf die wichtigsten Zuckerarten wertvoll. In folgender Tabelle geben die Ziffern die relativen Zahlen an, welche in Hefewasser mit 8 Proz. der betreffenden Zuckerarten bei 28° C im Gärungskölbchen erhalten werden.

	Lävulose		Glukose		Rohrzucker		Maltose		Milchzucker		Galaktose	
	Gärung	Wachst.	Gärung	Wachst.	Gärung	Wachst.	Gärung	Wachst.	Gärung	Wachst.	Gärung	Wachst.
1. A. aërogenes	5	9	10	9	4	10	10	5	5	5	2	7
2. A. viscosum	5	8	10	8	9	9	10	5	1	5	4	8
3a. A. coli var. commune [1])	2	4	2	3	2	2	1	4	1	4	2	4
b. A. coli var. infusionum [2])	3	6	10	8	7	8	2	2	1	3	5	6
4. A. liquefaciens	2	7	8	8	5	8	1	3	1	2	2	6

Die Zahl für das Wachstum ist eine „kolorimetrische", d. h. bestimmt nach dem Augenschein der Trübung. Die Gärungszahl giebt die Kubikcentimeter Gas (Gemisch von Kohlensäure und Wasserstoff) an, welche in ungefähr 36 Stunden aus 25 ccm der genannten Nährflüssigkeit entstanden sind.

Das Interessanteste, was aus dieser Tabelle in physiologischer Hinsicht hervorgeht, ist die Thatsache, daß Wachstum und Gärung durchaus nicht immer parallel fallen und steigen, was besonders bei A. viscosum in Bezug auf Rohrzucker, Maltose und Milchzucker bemerkenswert ist. Auch das Verhalten von Lävulose ist bemerkenswert.

4. Aus welchen Körpern erzeugt Aërobacter Schwefelwasserstoff? Ursache des Fäulnisgeruches.

Die „Bleiweißprobe", wie diese früher beschrieben wurde, bezieht sich bei jener Versuchsanstellung auf die Sulfidbildung aus Eiweißkörpern. Dieses geht daraus hervor, daß eiweißfreie „Bleiweißplatten", auch wenn sie Sulfate enthalten, bei der Impfung mit A. coli oder anderen Arten vollkommen farblose Kulturen liefern. Ebenso muß auf die Zersetzung von Proteïnkörpern die bekannte Braunfärbung von Bleiacetatpapier zurückgeführt werden, welches im Halse von Kölbchen mit Fleischbouillon oder Malzwürze aufgehängt ist, worin Aërobacter-Kulturen angelegt sind. Es ist eigentümlich, daß die hierbei erzeugten Sulfide keinen unangenehmen Geruch verbreiten. Dieses geht aus folgender Beobachtung hervor. Wenn man Fleischbouillon mit Grabenwasser infiziert und bei beschränktem, jedoch nicht ausgeschlossenem Luftzutritt kultiviert, so entstehen höchst widrig riechende Kulturen, oberhalb welchen Bleipapier dunkelbraun wird. Dieser Geruch verändert sich durchaus nicht,

1) Aus Menschenfaeces.
2) Aus Milch.

wenn man der Kulturflüssigkeit Bleiweiß zusetzt, trotzdem dieses Bleiweiß sich tief braun färbt und alle Sulfide so vollständig absorbiert, daß Bleipapier, im Halse des Kölbchens aufgehängt, gänzlich farblos bleibt. Hieraus ergiebt sich, daß es nicht die Sulfide sind, welche den widerlichen Fäulnisgeruch verursachen und daß der Gestank der Stadtgräben jedenfalls nicht von Schwefelwasserstoff herrühren kann.

Andererseits ist es sicher, daß diese widerlichen Körper, eben wie die Sulfide selbst, aus Proteïnkörpern hervorgehen, denn aus Lösungen, welche Asparagin, Glukose, Natriumsulfit und Kaliumphosphat enthalten und woraus nach der Impfung mit Aërobacter coli viel Schwefelwasserstoff freikommt, entwickelt sich eher ein angenehmer wie ein widerlicher Geruch. Obschon ich glaube, daß die Geruchstoffe phosphorhaltige Abspaltungsprodukte der Proteïnkörper sind, konnte ich mich bisher von der Realität dieser Ansicht noch nicht überzeugen. Doch machte ich darüber nur vorläufige Versuche mit Silberpapier. Aërobacter ist bei deren Produktion gar nicht beteiligt, die Körper werden vorwiegend durch Vibrionen und Spirillen erzeugt und zum Teil durch Anaëroben.

Eine ausgezeichnete Nährlösung für alle Aërobacter-Arten, welche vollständig frei von Proteïnkörpern ist, ist folgende: Zu 100 ccm destilliertem oder Leitungswasser fügt man 0,5 g Asparagin, 3—10 g Glukose, 0,01 g KH^2PO^4 und 0,01 g $MgSO^4$. Füllt man damit Kölbchen bis zum Halse an und impft mit irgend einer Aërobacter-Art, so entwickelt sich bei 30° C innerhalb 12—18 Stunden eine lebhafte Gärung, wobei Wasserstoff und Kohlensäure entstehen und kräftiges Wachstum stattfindet. Bringt man dazu Bleiweiß, so bleibt es ebensowohl ungefärbt wie darüber gehängtes Bleipapier, weil das Sulfat nicht reduziert wird.

Mit eiweißfreiem Agar versetzt kann diese Lösung zur Anfertigung eiweißfreier „Bleiplatten“ verwendet werden. Um aus dem Agar des Handels das Eiweiß zu entfernen, muß dasselbe längere Zeit mit Wasser extrahiert werden, worin sich etwas Bakteriennahrung vorfindet, z. B. Spuren von Glukose, Phosphat und Asparagin, während das Ganze einer spontanen Infektion überlassen bleibt. Die sich massenhaft ansiedelnden proteolytischen Bakterien zerlegen das Eiweiß des Agars vollständig, und die Zersetzungsprodukte können schließlich mit destilliertem Wasser ausgewaschen werden. Ein solches Präparat giebt dann im Gegensatz zum käuflichen Agar überhaupt keine Veranlassung mehr zur Sulfidbildung [1]).

Aus den auf diese Weise dargestellten flüssigen und festen Nährmedien wird weder durch Aërobacter noch durch irgend eine andere gewöhnliche Bakterie Schwefelwasserstoff entwickelt, und darin kommt keine Veränderung, wenn man durch Hinzufügung anderer eiweißfreier Nährstoffe die Nährlösung zu verbessern sucht, oder durch Verminderung oder Auslassung einzelner Substanzen darin ungünstigere Lebensbedingungen zu schaffen sucht.

1) Es giebt umgekehrt kein hübscheres Verfahren, um im käuflichen Agar das Eiweiß nachzuweisen, wie eben die „Bleiweißprobe“.

Jene Nährmassen sind deshalb geeignet, um festzustellen, aus welchen bestimmten Körpern Aërobacter und andere Bakterien dann wohl imstande sind, Schwefelwasserstoff abzuspalten: Ich habe in dieser Richtung mehrere Versuche angestellt und außer Eiweiß die folgenden Körper als besonders geeignet zur Sulfidbildung durch Aërobacter erkannt.

Zunächst gehört hierher der Schwefel selbst. Ich verwendete: Sulphur precipitatum der Apotheken, gewöhnliche Schwefelblumen und durch Oxydation von Schwefelwasserstoff mit Wasserstoffsuperoxyd erhaltenen, sehr fein verteilten Schwefel. Ich setzte diese Präparate entweder der Asparagin-Glukoselösung oder der eiweißfreien Asparagin-Glukose-Agar-Bleiweißplatte zu, kochte und impfte mit den verschiedenen Aërobacter-Arten und Varietäten meiner Sammlung. Oberhalb der Lösungen wurde im Kolbenhalse Bleiacetatpapier aufgehängt. Nach 12 Stunden war die Reaktion schon sehr deutlich. Das Bleipapier oberhalb der Nährlösung hatte sich geschwärzt. Die Impfstriche auf den Bleiagarplatten bräunten sich. Besonders die aus Faeces isolierte Form, d. h. A. coli var. commune, wirkt sehr intensiv. A. coli var. infusionum folgte etwas später und A. aërogenes färbte sich auf den Bleiplatten überhaupt nur schwach, wahrscheinlich, weil es daraus nur wenig Schwefel in Auflösung bringen kann, dagegen war es in der Flüssigkeit sehr aktiv. Kurz, Schwefel hat sich als eine der besten Quellen für bakteriogene Schwefelwasserstoffbildung ergeben. Der Versuch ist ganz analog der früher erwähnten Schwefelwasserstoffbildung aus Schwefel, welche in in Alkoholgärung befindliche Zuckerlösung gebracht wird. Auf welchem Chemismus die Umwandlung beruht, ist noch nicht deutlich; es muß angenommen werden, daß sich etwas Schwefel in der gärenden Flüssigkeit löst und in gelöstem Zustand in die Hefezelle oder den Bakterienkörper hineindringt. Anzunehmen, daß die Umwandlung des Schwefels außerhalb der Zellen stattfindet, ist sicher nicht gestattet. Daß der freie Wasserstoff, welcher in den Aërobacter-Kulturen vorkommt, bei dem Prozesse eine Rolle spielt, ist eben durch den Versuch mit Alkoholhefe in Reinkulturen ausgeschlossen, denn darin fehlt freier Wasserstoff vollständig.

Außer dem Schwefel giebt es noch eine andere Reihe von Körpern, welche in den Glukose-Asparaginkulturen, nach Impfung mit Aërobacter, mit großer Leichtigkeit Schwefelwasserstoff erzeugen, welcher sich durch darüber gehängtes Bleiacetatpapier nachweisen läßt. Ich meine die niederen Sauerstoffverbindungen des Schwefels, wovon ich Schützenberger's Hydrosulfit (SO^2Na), Thiosulfat, Tetrathionat, Sulfit und Pentathionat, alle als Natriumsalze, näher untersucht habe. Da diese Salze nur sehr wenig nachteilig sind für das Wachstum von Aërobacter, so können Mengen zugegeben werden, z. B. von 0,1—0,5 Proz. in Bezug auf die Nährlösung, was durchaus zureichend ist, um die Ueberführung derselben in Schwefelwasserstoff in 12 oder weniger Stunden sichtbar zu machen. Die Versuchseinrichtung ist wie beim Schwefel. Das Salz wird in die kochende Asparagin-Glukoselösung gebracht, im Falle von Natriumsulfit, welches leicht an der Luft zu Sulfat oxydiert, schnell abge-

kühlt, mit Aërobacter geimpft, Bleipapier am Baumwollenbausche im Kolbenhalse aufgehängt und in den Brutschrank bei 30° gestellt. Da die Sulfite, wie gesagt, an der Luft sehr leicht zu Sulfaten oxydieren, muß einem allzureichen Luftzutritt vorgebeugt werden, was in gewöhnlichen Kochkolben dadurch erreicht werden kann, daß dieselben bis zum Halse angefüllt werden. Besonders die leichte und schnelle Ueberführung des Natriumsulfits in Schwefelwasserstoff interessierte mich, weil dieser Körper in schwach saueren Lösungen sicher giftig ist, wodurch die Frage nahe gelegt wird, ob nicht die ganze Erscheinung der Schwefelwasserstoffbildung durch Aërobacter und andere Bakterien, vielleicht nur die Entfernung des für dieselben in irgend einer Beziehung nachteiligen Schwefels aus den Lösungen bezweckt.

Genau wie bei der Verwendung von Schwefel stimmen also die Aërobacter-Arten in ihrem Verhalten zu den niederen Schwefel-Sauerstoffverbindungen vollständig mit der Alkoholhefe überein, denn auch von der letzteren habe ich früher erwiesen, wie leicht dadurch diese Körper, namentlich Sulfite und Thiosulfate, in Schwefelwasserstoff übergeführt werden[1]).

Das durch Aërobacter erzeugte Sulfid bleibt zum Teil an oder in dem Bakterienkörper zurück. Dieses geht aus folgendem, nicht uninteressanten Verhalten hervor. Wenn man in eine flache Porzellanschale etwas Kaliumjodatlösung (KJO^3) bringt, welche mit Stärkekleister versetzt und schwach angesäuert ist, und dann mit dem Platinspatel Bakterienmaterial hineinbringt, welches herrührt von Aërobacter-Kulturen (am besten A. coli und A. aërogenes die auf Fleisch- oder Würzgelatine geführt sind), so wird das Jodat durch das im Bakterienkörper enthaltene Sulfid unter Absonderung von Jod- und Blaufärbung der Stärke reduziert. Daß es sich hierbei nicht einfach handelt um Abspaltung von Schwefelwasserstoff aus dem protoplasmatischen Eiweiß des Bakterienkörpers, folgere ich daraus, daß Bierhefe und koaguliertes Hühnereiweiß Jodat mit sehr viel geringerer Intensität reduzieren, und mehr noch aus dem früher beschriebenen Versuch, welcher zu zeigen scheint, daß A. coli und A. aërogenes in schwefelfreien Lösungen kultiviert werden können, und deshalb aus schwefelfreiem Protoplasma aufgebaut sein dürften. Damit in Uebereinstimmung ist die Thatsache, daß üppige Kulturen von A. coli, welche auf dem oben beschriebenen eiweißfreien Agarboden kultiviert waren, eine Stärkejodatlösung nicht blau färbten. Uebrigens wird das Jodat so-

1) Hiermit ist auch die „neue Theorie" der Schwefelwasserstoffbildung aus Sulfaten von Prof. Saltet (Handelingen van het 7e Natuur- en Geneeskundig-Congres te Haarlem. p. 378. Haarlem 1899) und Herrn C. S. Stokvis (Bijdrage tot de verklaring van de zwavelwaterstofvorming in het Amsterdamsche grachtwater. Amsterdam 1899) genügend widerlegt. Die Herren nehmen nämlich an, daß Coli Sulfate reduziert zu Sulfiten oder anderen niederen Schwefel-Sauerstoffverbindungen, was nicht wahr ist, und glauben, daß andere Bakterienarten „diese" niederen Schwefel-Sauerstoffverbindungen zu Schwefelwasserstoff reduzieren, was eben Coli sehr gut selbst würde thun können. Um auch ihrerseits einen kleinen Beitrag zu der gegenwärtig in der bakteriologischen Nomenklatur herrschenden Verwirrung zu liefern, nennen sie Coli „Bacillus desulfuricans".

wohl durch Schwefelammon und Schwefelwasserstoff wie durch alle oben genannten niederen Schwefel-Sauerstoffverbindungen zersetzt, und zwar am schwierigsten durch die Sulfite, wofür er eben das klassische Reaktiv ist. Viel kräftiger reduzierend wirken dagegen Schwefelammon, Thiosulfat, Tetra- und Penthathionat.

Daß aber nicht die drei letzteren Körper, sondern nur Sulfide bei der hier in Betracht kommenden Jodatreduktion beteiligt sind, steht für mich über allem Zweifel. Die direkte Reduktion des Jodats zu Jodkalium, welches mit dem noch nicht zersetzten Jodat, nach Zusatz von Säure, Jod abscheiden und Stärke blau färben kann, ist hier ausgeschlossen; diesen Vorgang konnte ich für Bakterien nicht nachweisen und nur bei einigen Hefen in schwacher und unregelmäßiger Ausbildung.

22. Januar 1900.

Nachdruck verboten.

Zur Physiologie des Bacillus prodigiosus.

Von **Georg Ritter** aus Moskau.

Eines der interessantesten Resultate, welche Liborius in seinen „Beiträgen zur Kenntnis des Sauerstoffbedürfnisses der Bakterien“ [1]) mitgeteilt hat, besteht darin, daß Micrococcus prodigiosus in anaëroben Kulturen sowohl auf zuckerhaltigem Nährboden (mit Gärung), als auch auf zuckerfreiem (ohne Gärung) gleich gut wächst. Die Wichtigkeit dieser Thatsache ist auch allgemein anerkannt worden; dieselbe ist in verschiedene Lehrbücher aufgenommen und zu theoretischen Schlußfolgerungen über die Bedeutung der Gärung für die Anaërobiose verwertet worden [2]). Deshalb schien es mir von wesentlichem Interesse zu sein, diese Frage einem genaueren Studium zu unterwerfen. Besonders hoffte ich, durch die Untersuchung der Stoffwechselprodukte einige Anhaltspunkte für die Beurteilung der Beziehungen zwischen Gärung und Anaërobiose zu gewinnen. Doch mußte ich sehr bald diese Hoffnung aufgeben, denn es stellte sich heraus, daß die Behauptung Liborius' der Wirklichkeit gar nicht entspricht, wie das aus der folgenden kurzen Beschreibung meiner Versuche zu ersehen ist:

Zur anaëroben Kultur benutzte ich folgende einfache Methode: Mit geeigneter Nährlösung beschickte Reagenzgläser wurden sterilisiert, mit Spuren einer Reinkultur des B. prodigiosus geimpft und in eine dickwandige Glasflasche gebracht. Diese Flasche wurde mit einem durchbohrten Gummistopfen verschlossen, durch dessen Bohrung ein rechtwinklig gebogenes Glasrohr luftdicht eingeführt war. Letzteres konnte durch einen Gummischlauch mit der Luftpumpe verbunden und nach genügendem Evakuieren an der Gasflamme

---

1) Zeitschr. f. Hyg. Bd. I. 1886. p. 115.

2) Flügge, Die Mikroorganismen. 2. Aufl. Bd. I. p. 128; Pfeffer, Pflanzenphysiologie. Bd. I. 1897. p. 538, 539, 563.

abgeschmolzen werden. Um eine Kontrolle für Sauerstoffabwesenheit zu haben, wurde in die Flasche etwas Pyrogallussäurelösung hereingebracht und vor dem Auspumpen ein Stückchen Aetzkali hinzugefügt. Das entstandene Pyrogallat nahm dabei eine hellbraune Farbe an und behielt dieselbe auch während der ganzen Versuchszeit. Meine Nährlösungen hatten folgende Zusammensetzung: 1) Pepton Witte 1 Proz., $MgSO_4$ und K_2HPO_4 je 0,1 Proz. (in destilliertem Wasser), 2) dasselbe wie 1., mit Zusatz von 1—2 Proz. Traubenzucker oder anderer Kohlehydrate.

Zahlreiche, auf diese Weise ausgeführte Versuche haben immer dasselbe übereinstimmende Resultat ergeben: Während die zuckerhaltigen Lösungen sich nach einigen Tagen stark trübten, blieben die zuckerfreien selbst nach 14 Tagen (bei 25—28° C) vollkommen klar, und auch durch mikroskopische Beobachtung war keine Vermehrung der Keime zu konstatieren. Daß diese aber keineswegs abgestorben waren, erhellt daraus, daß nach erfolgtem Luftzutritt sich in allen zuckerfreien Lösungen eine üppige Entwickelung des B. prodigiosus zeigte. Außer Traubenzucker wurden noch Milchzucker, Rohrzucker, Maltose, Dextrin und Stärke als Kohlenstoffquellen geprüft. Auf Milchzuckerpepton zeigte sich gar keine Entwickelung; auf Rohrzucker und Maltose nur etwa schwächer und auf Dextrin und Stärke viel schwächer, als auf Traubenzucker.

Nachdem mir diese Versuche gezeigt hatten, daß B. prodigiosus nur in Gegenwart von Kohlehydraten ohne freien Sauerstoff wachsen kann, nahm ich mir vor, die von Liborius erwähnte Gasbildung näher zu untersuchen. Bei der eben beschriebenen Versuchsanordnung war allerdings nichts davon zu merken, aber auch im Gärkölbchen zeigte keine einzige Kultur Gasentwickelung, wenn auch die Fähigkeit zur fakultativen Anaërobiose sich durch Trübung des geschlossenen Schenkels kundgab. Dasselbe berichtet auch Scheurlen[1]) in seiner Arbeit über B. prodigiosus. Die Gasbildung, welche von einigen Forschern (Liborius, Schottelius) beobachtet wurde, erklärt er für einen rein chemischen Vorgang. B. prodigiosus hat nämlich die Fähigkeit, aus Zucker Säure (Ameisen- und Bernsteinsäure) zu bilden; diese Säure kann das zum Neutralisieren des Nährbodens benutzte Natriumkarbonat zersetzen und das Entweichen an freier CO_2 veranlassen. Damit wäre in der That der eine Irrtum von Liborius erklärt. — Wie soll man sich aber den anderen, auf den ich oben hingewiesen habe, erklären? Die einzige Erklärung ist darin zu suchen, daß Liborius als Nährboden die allgemein gebräuchliche Fleischgelatine benutzt hat. Im Rindfleisch ist aber beinahe immer Zucker (Muskelzucker) enthalten (bis 0,3 Proz.). Ich konnte mich überzeugen, daß B. prodigiosus thatsächlich sowohl in gewöhnlicher (peptonisierter) Fleischbouillon, als auch in Peptonlösungen mit 0,1—0,3 Proz. Traubenzucker ziemlich gut anaërob wachsen kann. Daß dieses Wachstum auch wirklich vom Zuckergehalt der Bouillon abhängt, folgt daraus, daß in entzuckerter Bouillon dasselbe ausbleibt. Zum Entzuckern wurde

1) Arch. f. Hyg. Bd. XXVI. 1896. p. 28 u. 29.

eine Methode angewandt, deren Prinzip von Smith[1]) angegeben ist. Smith zerstört den Zucker dadurch, daß er B. coli commune kurze Zeit in der zuckerhaltigen Bouillon kultiviert. Nachdem der Zucker vom Pilze verbraucht ist, kann man die Bouillon durch Neutralisieren, Filtrieren u. s. w. von neuem gebrauchsfähig machen. Statt des B. coli ist es aber ratsamer, eine solche Art zu benutzen, welche nur solange wächst, bis noch Zucker in der Bouillon vorhanden ist, und die übrigen Nährstoffe nicht unnützerweise angreift. Dieser Forderung entspricht ein von E. Weiß[2]) aus Rübenschnitzeln isolierter und unter dem Namen Bact. pabuli acidi II beschriebener Organismus, welcher außerdem die günstige Eigenschaft, nur auf dem Boden des Kulturgefäßes ein Sediment zu bilden und die übrige Kulturflüssigkeit klar zu lassen, hat[3]). (Durch Parallelversuche konnte ich mich überzeugen, daß schädliche Stoffwechselprodukte in der entzuckerten Bouillon nicht gebildet waren. In entzuckerter Bouillon + 1 Proz. Traubenzucker verhielt sich B. prodigiosus wie in normaler zuckerhaltiger.)

Aus meinen Versuchen lassen sich also im Gegensatz zu der Behauptung Liborius' folgende Schlüsse ziehen:

1) Pepton allein genügt nicht zur anaëroben Entwickelung des B. prodigiosus. Letzterer bedarf dazu vielmehr einer zweiten Kohlenstoffquelle, wie Traubenzucker, Rohrzucker, Maltose.

2) B. prodigiosus ist überhaupt kein Gärungserreger, d. h. er vermag auch auf zuckerhaltigen Nährböden kein Gas zu bilden.

Die Resultate von Liborius haben sich also als irrtümliche herausgestellt, und ein anderer analoger Fall (Anaërobiose mit und ohne Gasbildung) ist bis jetzt auch für keinen anderen Organismus aufgefunden worden. Doch giebt es Beispiele genug, welche uns zeigen, daß Gasproduktion jedenfalls keine notwendige Bedingung für das Zustandekommen der Anaërobiose ist. Ich brauche nur von fakultativ anaëroben (außer B. prodigiosus) B. typhosus[4]) und Bacterium lactis acidi Leichmann[5]), von obligat anaëroben B.

---

1) Ueber Fehlerquellen bei Prüfung der Gas- und Säurebildung bei Bakterien und deren Vermeidung. (Centralbl. f. Bakt. Bd. XXII. 1897. p. 49.)

2) Ueber drei in gesäuerten Rübenschnitzeln neu aufgefundene Milchsäurebakterien. 1898. [Götting. Dissert.]

3) Eine Reinkultur dieser Bakterie wurde mir von Herrn Dr. Leichmann, Assistenten am bakteriologischen Laboratorium, zur Verfügung gestellt, wofür ich ihm meinen besten Dank ausspreche.

4) Smith, Centralbl. f. Bakt. Bd. XVIII. 1895. p. 8. Smith hat auch zuerst auf die Abhängigkeit der fakultativen Anaërobiose vom Zucker aufmerksam gemacht (Centralbl. f. Bakt. Bd. XIV. 1893. p. 864). Seine Behauptung aber, daß auch der Rauschbrandbacillus und B. oedematis maligni nur bei Zuckerzusatz wachsen, ist entschieden falsch. Unter Anwendung der oben beschriebenen Versuchsmethode gelang es mir leicht, die Resultate Chudjakow's zu bestätigen, welcher das anaërobe Wachstum dieser beiden Spaltpilze und des B. tetani in einer Lösung von Pepton und Mineralsalzen beobachtet hat. (Chudjakow, Zur Lehre von der Anaërobiose. 1896. p. 44, 69 ff.) [Russisch.] Zu den Anaëroben, welche den Zucker entbehren können, gehört überhaupt die ganze Gruppe der eiweißzersetzenden Anaëroben. (Beijerinck, Arch. Néêrland. 1899. p. 397 ff.)

5) Centralbl. f. Bakt. (II. Abt.) Bd. II. 1896. p. 780 u. ibid. Bd. V. 1899. p. 347.

polypiformis und muscoides[1]) zu nennen. Wenn man also unter Gärung nur das Auftreten von gasförmigen Stoffwechselprodukten verstehen will, so kann man allerdings behaupten, daß Gärung keine notwendige Bedingung für Anaërobiose sei. Doch liegt die Unzulänglichkeit einer solchen Definition der Gärung auf der Hand. Man bedenke nur, daß z. B. Milchsäuregärung sowohl mit Gasbildung (B. lactis aërogenes), als auch ohne solche (B. lactis acidi Leichmann) verlaufen kann. Am besten wäre es wohl, unter dem Begriffe Gärung alle Stoffwechselprozesse zusammenzufassen, welche unter Freiwerden von Energie verlaufen und bei Abwesenheit des freien Sauerstoffes die normale Atmung vertreten können. Diese Auffassung erlaubt uns, alle bekannten Thatsachen von einem gemeinsamen Standpunkte aus zu betrachten[2]).

Göttingen, 30. Januar 1900.

Nachdruck verboten.

Untersuchungen über die Ursachen des Ranzigwerdens der Butter.

[Aus dem hygienischen Institute der Universität Gießen.]

Von **R. Reinmann**, Assistent an der Versuchsstation Hildesheim.

(Schluß.)

Damit man mir nicht etwa den Vorwurf machen könnte, daß die in der Butter vorgegangenen Veränderungen aus anderen Einflüssen stammen, habe ich es nie versäumt, parallel den Versuchen stets mehrere Kontrollen unter denselben Bedingungen hinzustellen, aber ohne zu impfen.

Kontrolle.

Dat.	Gewöhnliche Butter	S°	Sterilrahmbuttter	S°
24. III.	Frisch und angenehm	4,3	Frisch und angenehm	3,8
1. IV.	Etwas sauer, Geschmack noch gut	5,6	id.	3,8
4. IV.	Ranzig	11,0	id.	3,9
14. IV.	Stark ranzig	15,6	id.	3,9
21. IV.	id.	18,4	Etwas talgig, aber noch gut	4,0
	Micrococcus acidi lactici.			
24. III.	Frisch und angenehm	4,3	Frisch und angenehm	3,8
1. IV.	Wenig verändert	5,4	id.	3,7
4. IV.	Ranzig	7,6	id.	3,9
14. IV.	Stark ranzig	12,0	id.	4,2
19. IV.	id.	16,7	id.	4,4
	Sarcina lutea.			
24. III.	Frisch und angenehm	4,4	Frisch und angenehm	3,8
1. IV.	id.	5,7	id.	3,7
4. IV.	Schwach ranzig, stark gelbe Farbe	7,4	id	4,3
9. IV.	Ranzig	11,2	id.	4,1
14. IV.	Stark ranzig	13,9	id.	4,4
21. IV.	id.	18,0	id.	4,5

1) Liborius, l. c. p. 169.
2) Vergl. Pfeffer, Pflanzenphysiologie. Bd. I. 1897. p. 555 ff.

Dat.	Gewöhnliche Butter	S⁰	Sterilrahmbutter	S⁰
		Bac. acidi lactici.		
24. III.	Frisch und angenehm	4,5	Frisch und angenehm	3,8
1. IV.	id.		id.	4,2
4. IV.	Schwach ranzig	6,0	Geschmack ganz vorzüglich	4,2
14. IV.	Ranzig	11,0	id.	4,2
19. IV.	id.	17,2	id.	4,1
29. IV.	—	—	Etwas talgig	—
		Bact. helvolum.		
24. III.	Frisch und angenehm	4,3	Frisch und angenehm	3,8
1. IV.	Etwas sauer	5,8	id.	3,8
4. IV.	Ranzig	9,2	id.	3,9
14. IV.	Stark ranzig	14,5	id.	4,4
19. IV.	id.	16,0	Etwas talgig	4,7
		Bac. coli communis.		
24. III.	Frisch und angenehm	4,3	Frisch und angenehm	3,8
1. IV.	Etwas sauer	6,1	id.	4,1
4. IV	Ranzig	8,2	id.	4,7
14. IV.	Stark ranzig	14,5	id.	7,6
19. IV.	id.	16,7	Etwas talgig, aber nicht ranzig	8,2
		Coliähnlicher Bac. (Erdbeerbacillus).		
24. III.	Frisch und angenehm	4,3	Frisch und angenehm	3,8
1. IV.	id.	5,6	Geruch nach Erdbeeren	4,6
3. IV.	Schwach ranzig u. Erdbeergeruch		id.	5,5
14. IV.	Ranzig	13,9	id.	6,2
21. IV.	id.	14,0	Sehr gut erhalten	6,5
		Bac. mesenteric. vulgat.		
24. III.	Frisch und angenehm	4,5	Frisch und angenehm	3,9
1. IV.	id.	5,5	id.	3,8
3. IV.	Ranzig	7,4	Etwas verändert	4,2
14. IV.	Stark ranzig	8,7	Geruch nach sauren Kartoffeln	4,3
21. IV.	id.	17,2		5,6
		Bac. butyricus Hueppe.		
24. III.	Frisch und angenehm	4,5	Frisch und angenehm	3,8
1. IV.	id.	5,8	id.	4,3
4. IV.	Schwach ranzig	7,6	id.	4,4
15. IV.	Ranzig	14,4	id.	4,6
21. IV.	id.	16,2	Etwas talgig	4,9
		Bac. butyric. Botkin.		
24. III.	Frisch und angenehm	4,7	Frisch und angenehm	1,4
1. IV.	Geruch nach Buttersäure	5,8	id.	2,7
4. IV.	id. und ranzig	10,2	id.	3,7
15. IV.	Ranzig	15,1	id.	5,2
22. IV.	id.	18,0	Etwas talgig	6,0
		Bac. fluorescens liquefaciens.		
24. III.	Frisch und angenehm	4,3	Frisch und angenehm	3,8
29. III.	Unangenehmer Geruch	5,5	Stark unangenehmer Geruch	
4. IV.	Stark ranzig	6,6	id.	10,7
10. IV.	id.	9.5	Vollständig ungenießbar	11,7
19. IV.	id.	16,2	id. aber nicht ranzig	17,0
		Bac. proteus mirabilis.		
24. III.	Frisch und angenehm	4,5	Frisch und angenehm	3,7
1. IV.	Etwas sauer	5,8	id.	4,2
5. IV.	Ranzig	8,2	id.	5,4
17. IV.	Stark ranzig	9,0	Etwas verändert, aber noch gut	6,7
24. IV.	id.	12,3	id.	6,8

Dat.	Gewöhnliche Butter	S⁰	Sterilrahmbutter	S⁰
		Streptothrix alba.		
24. III.	Frisch und angenehm	4,3	Frisch und angenehm	3,8
1. IV.	Moderiger Geruch	6.0	Stark moderiger Geruch	4,7
5. IV.	Ranzig	11,5	id.	5,5
13. IV.	Stark ranzig	15,4	id.	7,2
21. IV.	id.	17,6	id.	7,3
		Oïdium lactis.		
24. III.	Frisch und angenehm	4,5	Frisch und angenehm	3,1
1. IV.	Wenig verändert	6,9	id.	7,0
6. IV.	Ranzig	11,0	id.	13,8
12. IV.	id.	14,3	id.	16,1
24. IV.	id.	19,7	Unverändert	22,2
		Sproßpilz.		
5. IV.	Frisch und angenehm	4,2	Frisch und angenehm	3,1
11. IV.	Wenig verändert	5,9	id.	7,0
19. IV.	Ranzig	9,8	Unangenehmer Geruch	10,5
28. IV.	Stark ranzig	12,4	id.	13,0
4. V.	id.	18,5	nicht ranzig	24,5
		Weiße Hefe.		
5. IV.	Frisch und angenehm	4,5	Frisch und angenehm	3,5
11. IV.	Wenig verändert	5,6	id.	3,7
19. IV.	Ranzig	8,3	id.	3,7
28 IV.	id.	9,8	id.	3,5
4. V.	id.	12,2	Unverändert	3,6
		Rosa-Hefe.		
18. IV.	Frisch und angenehm	4,5	Frisch und angenehm	3,5
26. IV.	id.	5,7	Unverändert, rötliche Farbe	3,6
1. V.	Schwach ranzig	8,5	id.	3,5
9. V.	Ranzig	10,9	id.	3,4
17. V.	id.	13,2	id.	3,3
		Mucor-Pilz.		
24. III	Frisch und angenehm	4,3	Frisch und angenehm	3,8
1. IV.	Geruch nach Bittermandelöl		Starker Geruch nach Bittermandelöl	9,0
7. IV	id.	5,7	id.	14,3
15. IV.	id. und ranzig	14,7	id.	—
25. V	id.	23,1	id.	32,2

Diese Versuche lieferten also in Bezug auf das Ranzigwerden ein negatives Resultat. Von den 17 Spezies war nicht eine einzige imstande, die Butter ranzig zu machen. Bei der gewöhnlichen Butter sehen wir durchweg keine nennenswerten Unterschiede, die Kontrolle verhielt sich ziemlich wie die mit Reinkulturen versetzte Butter. Prägnanter treten die Unterschiede bei der Sterilrahmbutter hervor. Hier haben wir zunächst 3 Spezies, Bac. fluoresc. liquefac., Streptothrix alba und den Sproßpilz, welche die Butter in sehr unangenehmer Weise beeinflussen. Alle 3 säuern die Butter stark, verleihen ihr einen höchst widerlichen Geruch, machen sie aber nicht ranzig. Im Gegensatze hierzu verleihen der coliähnliche Bacillus sowie der Mucorpilz der Butter ein ganz spezifisches, sehr angenehmes Aroma. Ersterer erzeugt einen Geruch nach Erdbeeren, letzterer einen solchen nach Bittermandelöl. Die Butter wird zwar auch gesäuert, aber sie zeigt in jeder Richtung einen sehr angenehmen Geschmack.

Bei Micrococcus acidi lactici sowie bei Bacillus acidi lactici, wo man nach den bisherigen Erfahrungen am meisten auf eine starke Säurezunahme hätte rechnen können, findet man sich in dieser Annahme getäuscht. Umgekehrt finden wir bei Oïdium lactis eine sehr starke Säurezunahme, obwohl wir nach den bisherigen Erfahrungen wissen, daß dasselbe z. B. in sauer gewordener Milch auf Kosten der durch die anderen Mikroben produzierten Säure lebt. Eine Geschmacks- und Geruchsveränderung der Butter wird durch Oïdium nicht bewirkt.

Mittelst Anwendung von Reinkulturen ist es mir also nicht gelungen, Sterilrahmbutter ranzig zu machen, nun wäre es ja immerhin möglich, daß das Ranzigwerden nicht das Produkt einer einzelnen Spezies ist, sondern mehrerer. Ich habe daher versucht, durch Anwendung verschiedener Bakteriengemische zum Ziele zu gelangen. Zur Kontrolle habe ich jedesmal eine Probe der Sterilrahmbutter, welche ich zu den Versuchen verwendete, mit ranziger Butter geimpft, um Gewißheit darüber zu erlangen, ob die Butter die Fähigkeit ranzig zu werden, noch besitzt; die so infizierte Butter wurde dann auch jedesmal ranzig.

Folgende Tabelle zeigt die Resultate:

Dat.	Sterilrahmbutter mit									
	einem Bakteriengemisch aus Butter		einem Bakteriengemisch aus Rahm		einem Bakteriengemisch aus Milch		ranziger Butter geimpft		Kontrolle	
25. V.	Frisch und angenehm	2,4	Frisch und angenehm	2,4	Frisch und angenehm	2,4	Frisch und angenehm	2,4	Frisch und angenehm	2,4
1. VI.	Unangenehm. Geruch	6,8	Unangenehm. Geruch	7,8	Unangenehm. Geruch	4,9	Schwach ranzig	7,0	id.	2,5
6. VI.	id. id.	11,9	Schimmelgeruch	10,7	Schimmelgeruch	8,1	Stark ranzig	12,4	id.	2,4
26. VI.	Nicht ranzig	21,9	schwach ranzig	26,4	nicht ranzig	14,7	id.	21,6	id.	2,4

Also auch hier wieder ein negatives Resultat. Die Sterilrahmbutter, welche mit einem Bakteriengemisch aus Rahm geimpft wurde, zeigte zwar nach ca. 4 Wochen einen etwas ranzigen Geruch, doch möchte ich es nicht wagen, die zugeimpften Bakterien dafür verantwortlich zu machen, um so weniger, als ich bei Wiederholung der Versuche ebenfalls ein negatives Resultat erhielt. Die mit ranziger Butter geimpfte Sterilrahmbutter wurde wie früher in ganz kurzer Zeit ranzig, während die nicht geimpfte Kontrolle unverändert blieb.

Diese Ergebnisse veranlaßten mich nun, den Erreger des Ranzigwerdens anderweitig zu suchen. Zu diesem Zwecke impfte ich die Sterilrahmbutter mit frischer Butter, Milch, Rahm, Erde, Staub und Wasser, aber auch hier erhielt ich keine ranzige Butter.

Aus diesen Darlegungen ist somit ersichtlich, daß die Sterilrahmbutter nur durch Hinzuimpfung ranziger Butter ranzig gemacht werden kann. Es geht daraus mit aller Bestimmtheit hervor, daß die Erreger des Ranzigwerdens in der ranzigen Butter vorhanden sein müssen. Bereits oben habe ich darauf hingewiesen, daß es die in der ranzigen Butter vorhandenen Mikroorganismen oder die ebenfalls in derselben vorhandenen Fermente sein können, welchen die Eigenschaft zukommt, Sterilrahmbutter ranzig zu machen. Da es

nun mittels Reinkulturen und Bakteriengemischen nicht gelungen ist, Sterilrahmbutter ranzig zu machen, so läge die Vermutung am nächsten, daß beim Ranzigwerden Fermentwirkung in Betracht käme. Man müßte demnach, um definitiv zu entscheiden, die in der ranzigen Butter vorhandenen Mikroorganismen unschädlich machen, entweder durch fraktionierte Sterilisation, wie sie z. B. Baumann (l. c.) beim Keimfreimachen von Lab angewendet hat, oder aber durch Behandlung der ranzigen Butter mit Chloroform, welches, wie wir wissen, kaum einen Einfluß ausübt auf die Fermente, wohl aber geeignet ist, die Mikroorganismen zum Absterben zu bringen. Die so behandelte ranzige Butter hätte man zur Impfung der Sterilrahmbutter zu verwenden, würde diese nun ebenfalls nicht ranzig werden, so bliebe trotz der negativen Resultate mit Reinkulturen und Bakteriengemischen für das Zustandekommen des Ranzigwerdens der Butter keine andere Erklärung übrig, als daß es eben Mikroorganismen sind, welche die Butter in dieser Weise verändern. Es könnte nämlich der Fall sein, daß die Erreger des Ranzigwerdens unseren Kulturmethoden noch entgehen, wie es z. B. der Fall ist bei einigen Infektionskrankheiten, wie Masern, Scharlach etc., hier gelang es bis jetzt trotz Aufbietung aller möglichen Hilfsmittel nicht, die Erreger nachzuweisen.

Vielleicht gelingt es, durch verschiedene Variierung der Nährböden Mikroorganismen zum Wachstum zu bringen, welche bisher nicht bekannt waren, und daß diese dann event. in Bezug auf das Ranzigwerden ein anderes Resultat liefern.

In dieser Beziehung eröffnet sich für die Wissenschaft noch ein reiches Feld zur Bearbeitung. Leider war ich aus äußeren Gründen genötigt, meine Versuche hier abzubrechen. Wenn ich auch meine Aufgabe nicht endgiltig gelöst habe, so hoffe ich doch denjenigen, die sich event. später mit dieser Frage beschäftigen sollten, eine wünschenswerte Vorarbeit geliefert zu haben.

4. Resumé.

Wie ich durch meine Versuche gezeigt habe, kann ich die Angaben von Duclaux (l. c.), wonach das Ranzigwerden der Butter allein durch den Luftsauerstoff unter Mitwirkung des Lichtes erfolge, nicht bestätigen, da Sterilrahmbutter bei ungehindertem Luftzutritt nicht ranzig wurde. Ebenso kann ich auch die Angaben von Gottstein (l. c.), welcher das Ranzigwerden auf die Thätigkeit von anaëroben Mikroorganismen zurückführen will, nicht bestätigen, da Butter bei vollständigem Sauerstoffabschluß sich nicht veränderte.

Fragen wir uns nun, was spricht für und was gegen die Beteiligung des Luftsauerstoffs am Ranzigwerden, so können wir antworten:

Für die Beteiligung des Sauerstoffs beim Ranzigwerden der Butter spricht der Umstand, daß bei vollständigem Sauerstoffabschluß die Butter nicht ranzig wird.

Gegen die Beteiligung des Sauerstoffs spricht der Umstand, daß Sterilrahmbutter bei ungehindertem Luftzutritt nicht ranzig wird und daß Antiseptica das Ranzigwerden verhindern.

Fragen wir uns weiter, was spricht für die Mitwirkung der Mikroorganismen und was dagegen, so antworten wir im ersten Fall: Sterilrahmbutter kann durch Infektion mit ranziger Butter ranzig gemacht werden; bakterientötende Zusätze verhindern das Ranzigwerden. Gegen eine Mikroorganismenthätigkeit sprechen die Versuche mit Reinkulturen und Bakteriengemischen, weil es mit diesen nicht möglich war, Sterilrahmbutter ranzig zu machen.

Für Fermentwirkung spricht ebenfalls der Umstand, daß Sterilrahmbutter durch Infektion mit ranziger Butter ranzig gemacht werden kann, während Reinkulturen und Bakteriengemische nicht imstande sind, Sterilrahmbutter ranzig zu machen. Gegen Fermentwirkung spricht das Verhalten der gewöhnlichen Butter bei Kochsalzzusatz, weil das Ranzigwerden dadurch bedeutend verzögert werden kann, obwohl wir nach den Erfahrungen wissen, daß Kochsalz die Wirkung der Fermente kaum beeinträchtigt.

Wenn ich die Resultate in kurzen Sätzen zusammenfassen soll, so würden dieselben etwa folgendermaßen lauten:

1) Die Menge der in der Butter sich bildenden freien Säuren steht mit dem ranzigen Geschmack und Geruch in keiner Beziehung.

2) Ein hoher Gehalt der Butter an Caseïn und Milchzucker beschleunigt sehr das Ranzigwerden.

3) Dem Luftsauerstoff kommt beim Ranzigwerden der Btuter direkt nicht jene Bedeutung zu, welche ihm von anderer Seite beigelegt wurde, da Sterilrahmbutter auch bei freiem Luftzutritt nicht ranzig wird.

4) Das Licht spielt beim Ranzigwerden der Butter anscheinend überhaupt keine Rolle.

5) Die aus sterilisiertem Rahm hergestellte Butter wird unter gewöhnlichen Verhältnissen nicht ranzig. Man kann sie aber in wenigen Tagen ranzig machen durch Zukneten einer sehr geringen Menge ranziger Butter.

6) Die Frage, ob das Ranzigwerden der Butter durch Mikroorganismen oder Fermente bedingt wird, ist zur Zeit nicht zu entscheiden.

Zum Schlusse sei es mir gestattet, Herrn Geheimen Medizinalrat Prof. Dr. Gaffky für die mir in so reichem Maße erteilten Ratschläge meinen besten Dank auszusprechen.

Desgleichen bitte ich Herrn Prof. Dr. O. Roth in Zürich, welcher mich auf dieses Thema aufmerksam machte, meinen aufrichtigsten Dank entgegennehmen zu wollen.

Hildesheim, im Dezember 1899.

Original-Referate aus bakteriologischen und gärungsphysiologischen Instituten, Laboratorien etc.

Nachdruck verboten.

Arbeiten aus der biologischen Abteilung für Land- und Forstwirtschaft am Kaiserl. Gesundheitsamte[1]).

Frank, Der Erbsenkäfer, seine wirtschaftliche Bedeutung und seine Bekämpfung. Mit 1 Farbentafel.

Der Erbsenkäfer (Bruchus Pisi L.), der seine Entwickelung in einer Höhlung in den Erbsensamen durchmacht, wodurch die letzteren unverkäuflich werden, ist die Veranlassung, daß in der Neumark und in der Uckermark, wo der Käfer besonders stark verbreitet ist, der Anbau der Erbse unlohnend geworden und im Erlöschen begriffen ist. Um die Maßregeln zur erfolgreichen Bekämpfung zu finden, hat Verf. die Biologie des Käfers eingehend untersucht. Die wesentlichsten Ergebnisse sind folgende.

Der Befallungsgrad der geernteten Erbsen schwankte auf Grund der aus der Praxis erhaltenen Meldungen je nach Orten und Jahren zwischen 5 und 100 Proz. Die befallenen Erbsen werden in der Keimkraft nicht so geschädigt, daß sie zur Aussaat unbrauchbar wären. Eine Keimprobe ergab, daß von 100 Erbsen, die den Käfer noch enthielten, 40, von 100, die von demselben schon verlassen waren, 44 keimten.

Der Erbsenkäfer kommt nur auf der eigentlichen Saaterbse (Pisum sativum) vor, nicht auf Peluschken, Pferdebohnen, Futterwicken etc.; doch haben diese und andere Leguminosen andere Arten der Gattung Bruchus.

Die Entwickelungsgeschichte und Lebensweise des Erbsenkäfers werden durch Zucht des Insektes und durch Versuche im Laboratorium und im Freien nach allen den Richtungen hin verfolgt, welche Aufklärung über die Entstehung des Erbsenkäferschadens auf dem Felde geben müssen. Zur Zeit der Erbsenernte ist der Käfer noch nicht fertig, er ruht als Larve in den reifen Erbsen, seine Anwesenheit ist an denselben noch wenig bemerbar; im Laufe des September entsteht der fertige Käfer, der zunächst noch weiter im Samen verbleibt. Verf. hat nun festgestellt, daß der Käfer auf folgenden 3 Wegen durch den Winter auf die nächstjährigen Erbsenfelder, deren junge Hülsen er dann wieder mit Eiern belegt, gelangen kann: 1) Durch käferbehafteten Samenausfall, welcher auf den befallenen Erbsenfeldern zurückbleibt. In solchen Samen, gleichgiltig ob sie an der Erdoberfläche liegen oder durch Umpflügen in den Ackerboden kommen, erhalten sich die Käfer bis in den Winter oder schlüpfen vorher aus, um anderweitige Verstecke im Freien für den Winter aufzusuchen. Doch bekommt den Käfern der Winteraufenthalt im Freien lange nicht so gut als der in der Scheune. 2) Die Hauptmasse der Erbsenkäfer überwintert in der Scheune, wohin sie mit den geernteten käferbehafteten Erbsen ge-

1) Bd. I. 1899. Heft 1.

bracht wird. Von diesen verläßt eine große Anzahl bei wärmerem Wetter schon im Winter oder in der ersten Frühlingszeit die Samen, hält sich zuerst in den Scheunen auf und fliegt bei warmem Sonnenschein im Frühling ins Freie nach den Erbsenfeldern. 3) Viele Erbsenkäfer kommen erst mit dem Saatgute auf das Feld, weil sie bis zur Zeit der Erbsenbestellung den Samen noch nicht verlassen haben. Sehr viele Käfer befreien sich dann hier erst aus dem gesäten Samen und kommen aus der Erde hervor, wo sie sich nun gleich am Orte ihrer Bestimmung befinden. Nach dem Auflaufen der Erbsen lebt der Käfer auf den aufwachsenden Erbsenpflanzen, ohne diese bemerkbar zu beschädigen, um gegen die Zeit der Erbsenblüte sich zu begatten und dann die Eier an die jungen Hülsen zu legen.

Danach ergeben sich folgende Bekämpfungsmaßregeln: 1) Verwendung käferfreien Saatgutes, entweder durch Zukauf käferfreier Erbsen oder Desinfektion der käferbehafteten. Letzteres kann geschehen durch trockene Erwärmung auf 50—60° C während einiger Stunden oder durch Behandlung mit Schwefelkohlenstoff 10 bis 30 Minuten lang; beides ist zweckmäßig bald nach der Ernte vorzunehmen, solange die Käfer noch in den Samen sich befinden. Benutzung überjähriger Erbsen als Saatgut macht jede Desinfektion unnötig, weil in solchen Erbsen sich kein Käfer mehr befindet. 2) Zerstörung des Samenausfalles auf den Erbsenfeldern nach der Ernte durch Beweiden des abgeernteten Feldes mit Schafen und baldiges tiefes Umpflügen des Feldes. 3) Verhinderung des Zufluges von Erbsenkäfern aus Scheunen und Samenspeichern, dadurch daß die Erbsen bald nach der Ernte ausgedroschen und dann der erwähnten Desinfektion unterworfen werden, oder durch Verkauf baldigst aus der Wirtschaft entfernt oder aber geschrotet und in diesem Zustande aufgehoben und verfüttert werden. Das beste Mittel aber zur Ausrottung des Erbsenkäfers aus einer Wirtschaft, welches zugleich die genannten 3 Verfahren unnötig machen würde, ist 4) Entziehung der Nährpflanze durch Unterlassung des Erbsenbaues für ein Jahr oder wenigstens durch Grünabmähen und Verfüttern der unreifen Erbsenpflanzen im Juli, solange sie noch nicht Samen angesetzt haben, weil damit den Käfern die Möglichkeit des Fortkommens mit einem Male abgeschnitten wird.

Zur Ausrottung des Erbsenkäfers bedarf es des gemeinschaftlichen systematischen Vorgehens aller Beteiligten in der ganzen Gegend. Es empfiehlt sich hierzu eine einmalige Polizeiverordnung, welche zu lauten hätte: „Der Anbau von Erbsen und Peluschken zur Samengewinnung ist für ein von der Behörde zu bestimmendes Jahr allgemein im ganzen Bezirke verboten. Der Anbau dieser Pflanzen im Gemenge oder auf sonstige Weise zur Grünfuttergewinnung ist gestattet mit der Maßgabe, daß die Pflanzen im blühenden Zustande abgemäht werden. Für den Erbsenanbau in den nächstfolgenden Jahren dürfen nur käferfreie Erbsen verwendet werden.“ Die Kontrolle wäre durch Begehung der Ortschaften und Felder durch Schaukommissionen, die Beschaffung überjähriger oder sonst käferfreier Erbsen durch geeignete Organisation zu erzielen. Frank (Berlin).

Frank, Beeinflussung von Weizenschädlingen durch Bestellzeit und Chilisalpeterdüngung.

Den Einfluß, den die Bestellzeit und die Düngung mit Chilisalpeter auf die Gesundheit der Weizenpflanze ausüben, hat man bisher hauptsächlich bezüglich des Rostes näher verfolgt. Es werden hier auf Grund von vergleichenden Feldversuchen Erfahrungen beigebracht, nach welchen der Befall durch die Weizenhalmfliege (Chlorops taeniopus) durch Chilisalpeter bedeutend verstärkt, durch die Bestellzeit kaum beeinflußt wird, der Getreidemehltau (Erysiphe graminis) durch frühe Bestellung des Winterweizens und Winterroggens befördert, durch Chilisalpeterdüngung nicht beeinflußt wird, ferner der erst neuerdings vom Verf. in Deutschland aufgefundene Weizenhalmtöter (Ophiobolus herpotrichus), dessen Verbreitung in Deutschland und schädlicher Charakter an der Hand statistischer Angaben aus den Jahren 1894—1898 bewiesen werden, durch späte Bestellung zwar etwas zurückgehalten, durch Chilisalpeterdüngung aber kaum beeinflußt wird, endlich die ebenfalls erst in der neueren Zeit beachteten, oft mit Rost verwechselten Weizenblattpilze weder durch die Bestellungszeit noch durch Stickstoffdüngungen bemerkbar beeinflußt, vielleicht aber doch durch stärkere Gaben von Chilisalpeter etwas befördert werden. Verf. betont, daß noch weitere Erfahrungen nach diesen Richtungen wünschenswert sind und hebt die Wichtigkeit dieser Fragen für den Ackerbau hervor, da aus diesen Erfahrungen schon hervorgeht, daß die verschiedenen Feinde der Weizenpflanze nicht gleichsinnig durch die Kulturmethoden beeinflußt werden. Frank (Berlin).

Wissenschaftliche Station für Brauerei in München.

Steuber, L., Beiträge zur Kenntnis der Gruppe Saccharomyces anomalus Hansen[1]).

Keine Hefegruppe ist so scharf charakterisiert wie die Gruppe S. anomalus. Die eigentümlichen hutförmigen Sporen, welche bekanntlich sehr große Uebereinstimmung mit denjenigen von Endomyces decipiens Reeß zeigen, lassen wohl kaum einen Zweifel darüber aufkommen, daß es sich hier um eine natürliche Gruppe von Hefen handelt, während bei anderen diese Zusammengehörigkeit nicht so feststehen dürfte. Die Uebereinstimmung der Form der Sporen von S. anomalus mit denjenigen von Endomyces decipiens giebt aber vielleicht auch einen Fingerzeig über die Verwandtschaftsverhältnisse dieser Gruppe von Hefen zu anderen Pilzen. Ein genaueres Studium dieser Gruppe nach den verschiedensten Richtungen hin wird also unzweifelhaft von Interesse sein. Dieses Interesse muß sich vom praktischen Standpunkte aus noch erhöhen, nachdem seit Beginn der vorliegenden Untersuchungen (1893) Jörgensen eine Anomalus-Varietät[2]) beobachtete, welche in englischem (ober-

1) Nach „Mitteilungen der wissenschaftlichen Station für Brauerei in München". (Zeitschr. f. d. gesamte Brauwesen. 1900. No. 1—3.)

2) Mikroorganismen der Gärungsindustrie. 4. Aufl. 1898. p. 238.

gärigem) Bier Trübungen hervorgerufen hatte, also als Krankheitshefe aufgetreten war. Ebenso ist bekannt, daß einzelne dieser Varietäten Bouquetstoffe erzeugen, welche möglicherweise den Biergeschmack beeinflussen können.

Schon frühzeitig wurde diesen Hefen, welche nach zahlreichen, an der physiologischen Abteilung der wissenschaftlichen Station gemachten Beobachtungen durchaus nicht so selten in Bier und Bierhefe vorkommen, Aufmerksamkeit geschenkt, und liegen genaue Beobachtungen über das Vorkommen derselben schon aus dem Jahre 1886 von H. Will vor[1]). Damals wurde bei der Untersuchung eines als Infektionsherd erkannten Gummischlauches aus einer Brauerei neben anderen wilden Hefen ein Sproßpilz beobachtet, welcher aus kleinen Torula-ähnlichen Zellen bestehend, sehr schnell auf der Nährflüssigkeit eine Haut bildete, worin neben Zellen mit kleinen Oelkörperchen auch solche auftraten, welche 2—4 kleine hutähnliche Körperchen enthielten. Letztere wurden schon damals als Sporen angesprochen. Im Jahre 1887 wurde an der Station durch H. Will[2]) ein amerikanisches Bier aus Milwaukee untersucht, welches als wesentlichste Verunreinigung eine ähnliche wilde Hefe enthielt.

Im Jahre 1891 beschrieb Hansen einen derartigen Sproßpilz, welchen er schon früher isoliert hatte. Letzterer verlieh der Bierwürze ein obstartiges Aroma. Hansen nannte diese Hefe S. anomalus und erscheint damit als der Begründer der Gruppe S. anomalus. Im gleichen Jahre veröffentlichte derselbe auch seine Untersuchung über die Keimung der Sporen des S. anomalus[3]). P. Lindner[4]) fand später auf Grünmalz ebenfalls einen Sproßpilz mit hutförmigen Sporen. Derselbe hatte in einer mit Grünmalz gefüllten, lose verschlossenen Flasche einen intensiven Fruchtäthergeruch erzeugt. Die Hefe vegetierte hauptsächlich an den Wurzelkeimen. (Einen ähnlichen, vielleicht den gleichen S. anomalus konnte Ref. unter gleichen Verhältnissen auf Grünmalz konstatieren. D. Ref.)

Auch in einem belgischen Bier fand Lindner eine ähnliche Hefe[5]), ebenso Zeidler 1890 in gärendem Eibischsaft.

(Wenn also A. Jörgensen in seinem bekannten Buche: „Die Mikroorganismen der Gärungsindustrie“. 4. Aufl. p. 238 sagt: „Nachdem Hansen die Aufmerksamkeit auf die oben genannte Art (S. anomalus) gelenkt hatte, haben Holm, Lindner und Will auch diese und andere Arten beobachtet, welche sie gleichfalls in unreiner Brauereihefe fanden“, so ist dies in dieser Form nicht zutreffend und entspräche es mehr den Thatsachen, wenn es heißen würde: Gleichzeitig wurden auch in anderen Laboratorien zu dieser Gruppe gehörige Varietäten beobachtet. Daß Ref. seine Beobachtungen nicht früher einem größeren Kreise zur Mitteilung bringen konnte, lag in der früher durch die Statuten der wissenschaftlichen Station gegebenen Beschränkung. D. Ref.)

---

1) Zeitschr. f. d. gesamte Brauwesen. 1892. p. 75.
2) Zeitschr. f. d. gesamte Brauwesen. 1892. No. 16. p. 149.
3) Compt. rend. trav. Carlsberg Laborat. T. III. 1891. p. 60.
4) Wochenschr. f. Brauerei. 1892. No. 4. p. 75.
5) Lindner, P., Mikroskopische Betriebskontrolle. 2. Aufl. 1898. p. 392.

Die eingangs erwähnte, von Will beobachtete Varietät stammte aus dem Elsaß; später wurden sowohl bei der Untersuchung von Kühlschiffwürzen als auch von Jungbieren und schankreifen Bieren, hell wie dunkel, aus Bayern, Baden und Holland Hefen mit hutförmigen Sporen bei der Prüfung auf Infektion mittels der Gipsblockkultur gefunden. Auch die Hansen'sche Varietät stammt aus Bayern. Ferner finden sich in unseren Aufzeichnungen Beobachtungen über das Vorkommen von S. anomalus sowohl in Rohrzuckerproben als auch in raffiniertem Rohrzucker aus Brasilien, welcher dort als Surrogat zur Bierbereitung benutzt wurde. Auch in nordamerikanischem Bier fand, wie bereits erwähnt, H. Will Hefen mit hutförmigen Sporen.

Aus allen diesen Notizen geht hervor, daß die Vertreter der Hefegruppe S. anomalus sehr weit verbreitet sind.

Im Jahre 1894 haben Fischer und Brebeck[1]) einen „Beitrag zur Morphologie, Biologie und Systematik der Kahmpilze" veröffentlicht. Unter den von ihnen untersuchten Arten befanden sich auch solche, welche hutförmige Sporen bilden, also offenbar zur Gruppe S. anomalus gehören. Beide Forscher zählen dieselbe jedoch der von ihnen (auf Grund von Beobachtungsfehlern, d. Ref.) aufgestellten Gruppe Endoblastoderma zu, in welcher sie auch die übrigen Kahmpilze ohne Sporenbildung vereinigen. Eine der untersuchten Arten, welche aus Rotterdamer Lagerbier stammte (Beijerinck), zeichnete sich auch durch Fruchtätherbildung aus.

Steuber hat die an der wissenschaftlichen Station über das Vorkommen dieser Hefen geführte Statistik vom Jahre 1894 an fortgeführt und gleichzeitig eine Reihe derselben in Reinkultur gewonnen. Drei der charakteristischsten Formen, sowie eine von H. Will früher aus zerstoßenen Kirschen, welche in Selbstgärung übergegangen waren, erhaltene Varietät (II) wurden einer eingehenden Untersuchung im physiologischen Laboratorium der Station unterworfen. Die von den Kirschen erhaltene Varietät ist dieselbe, welche H. Will zu seinen Studien über Proteolyse[2]) verwendet hat. Die mit I bezeichnete Varietät stammt aus einem Hefewaschwasser einer badischen Brauerei, III und IV aus dunklem Münchener Bier.

I. Teil. Morphologisches und Biologisches über S. anomalus.

1. Wachstumsform in Einzellkulturen.

Bei sämtlichen 4 Varietäten ist die Wachstumsform anfangs regelmäßig (Typus I); später wuchsen die kugelförmigen Kolonieen strahlenförmig aus (Typus II).

2. Wachstumsform in Riesenkolonieen.

Nährsubstrat: 10-proz. Würzegelatine. Zimmertemperatur.

Varietät I. Die Riesenkolonieen stellen einen ganz dünnen Hefebelag dar, der in der Mitte gelblich, am Rande seidenglänzend

1) Jena (Gustav Fischer) 1894.

2) Zeitschr. f. d. gesamte Brauwesen. 1898. p. 127. Vergl. dies. Centralbl. Bd. IV. 1898. p. 753 u. 790.

weiß gefärbt erscheint. Die peripheren Partieen sind auf der Oberfläche strahlenförmig gezeichnet. Rand wenig gebuchtet.

Varietät II. Die Riesenkolonie wächst beträchtlich in die Dicke und färbt sich nach einiger Zeit rosa bis braunrot. Rand wenig gebuchtet. Centralpartie ringförmig erhoben, periphere Partie radial gestreift.

Varietät III. Weiße, unregelmäßige, stark gebuchtete Riesenkolonieen mit strahlenförmigem Wachstum. In der Mitte ist der Hefebelag etwas dicker.

Varietät IV. Aehnlich wie bei Varietät III. Riesenkolonie anfangs weiß, später gelblich, faltig.

Die Riesenkolonieen breiten sich also bei 3 Varietäten im wesentlichen auf der Gelatineoberfläche aus; nur die Varietät II zeigt auch erheblicheres Dickenwachstum. Ein durchgreifendes Merkmal dieser Varietät ist auch die braunrosa bezw. kirschrote Farbe der Riesenkolonieen gegenüber der anfangs weißen, später gelblichen Färbung der anderen Varietäten. Die Färbung ist die gleiche wie diejenige der Hautbildungen auf der Oberfläche von Bierwürze.

3. Verhalten in Stichkulturen. 10-proz. Würzegelatine.

Wachstum trat hauptsächlich an der Oberfläche ein; ca. 3 cm unter der Gelatineoberfläche hört dasselbe vollständig auf.

Die untersuchten Anomalus-Varietäten sind also, wie sich wesentlich auch daraus ergiebt, daß sie sich hauptsächlich auf der Oberfläche der Nährflüssigkeiten in Form von Häuten entwickeln, sehr luftbedürftig. Nur bei Varietät I, bei welcher ziemlich starke Gärungserscheinungen auftreten, entsteht ein ziemlich starker Hefenabsatz.

4. Abhängigkeit des Wachstums an der Oberfläche (Hautbildung) von der Temperatur.

Die Versuche wurden in 100 ccm 14-proz. Bierwürze von möglichst gleicher Oberfläche bei verschiedenen Temperaturen in der Weise durchgeführt, daß beobachtet wurde, wann die Würze vollständig von einer Haut bedeckt war.

Das Temperaturmaximum liegt bei Varietät I zwischen 37 und 40° C, bei Varietät II und III zwischen 30 und 35° C, bei Varietät IV zwischen 35 und 40° C.

Bei 5—6° C fand in keinem Fall eine Hautbildung statt. Jedenfalls darf die Temperatur nicht sehr viel unter 10° C fallen.

Das Temperaturoptimum liegt für Varietät I, II und III bei 30° C, bei Varietät IV bei 25° C.

Die Hautbildung in ihrer Abhängigkeit von der Temperatur giebt also in gleicher Weise wie bei den anderen bisher in dieser Richtung untersuchten Hefen durchgreifende Untersuchungsmerkmale ab.

Nur bei Varietät I treten Gärungserscheinungen auf; ebenso bildet dieselbe allein Essigäther wie der S. anomalus Hansen, sowie der von P. Lindner aus Grünmalz isolierte.

Die Zellen des Hefeabsatzes bei Varietät I haben das charakteristische Aussehen von „wilder Hefe", während die Zellen der Oberflächenhaut mehr dasjenige von typischen Mycodermazellen besitzen.

(Bei den übrigen Varietäten scheint diejenige Generation, welche alkoholische Gärung hervorzurufen vermag, mehr oder weniger verloren gegangen zu sein. D. Ref.)

5. Sporenbildung.

Die Sporenbildung wurde auf dem Gipsblock bei verschiedenen Temperaturen, vergleichsweise auch in der Haut von Bierwürzekulturen untersucht.

Bei Varietät I—IV liegt das Temperaturmaximum für die Sporenbildung etwas über 30° C, das Minimum für Varietät I und II zwischen 5 und 10° C, für Varietät III und IV zwischen 15 und 20° C.

Bei S. anomalus Hansen, welcher der Varietät I in vielen Beziehungen nahe steht, liegt nach J. Ch. Nielsen[1]) das Temperaturmaximum bei 32—32½° C, das Minimum zwischen 7½ und 2½° C.

Bei 25° C finden sich die ersten Sporenanlagen, welche, nebenbei bemerkt, sehr schwer zu beobachten sind, bei Varietät I nach 13—14 Stunden, bei S. anomalus Hansen nach 19—21 Stunden, bei Varietät II nach 20—22 Stunden.

Bei Varietät II ist sowohl auf dem Gipsblock wie in der Haut und in den Riesenkolonieen die Sporenbildung immer eine sehr reichliche, bei Varietät I nur auf dem Gipsblock sehr reichlich, in der Kahmhaut und in Riesenkolonieen dagegen im Verhältnis zu II spärlich. Varietät III und IV bilden auf dem Gipsblock nur vereinzelt Sporen; in den Häuten waren nach 4 Wochen bei Zimmertemperatur noch keine Sporen sichtbar; in den Riesenkolonieen war bei III und IV die Sporenbildung reichlich.

Bei Varietät III und IV kommt es in Beziehung auf die Sporenbildung darauf an, ob man jüngeres oder älteres Hautmaterial auf den Gipsblock bringt.

Das Sporenbildungsvermögen hat sich bei Varietät I und II seit 1895 vorzüglich erhalten, bei Varietät III nicht merklich abgenommen, bei Varietät IV ist es aber nicht mehr so reichlich wie früher. Einen ähnlichen Verlust des Sporenbildungsvermögens bei S. anomalus beobachtete auch P. Lindner[2]).

Die Sporenbildung giebt also auch bei den untersuchten Varietäten von S. anomalus wie bei den bisher in dieser Richtung untersuchten Hefearten diagnostische Merkmale ab.

6. Widerstandsfähigkeit gegen Erhitzen.

Versuche über die Widerstandsfähigkeit der vorliegenden Anomalus-Varietäten gegen Erhitzen in Flüssigkeiten haben zunächst praktischen Wert. Nach zahlreichen diesbezüglichen im physiologischen Laboratorium der Station durchgeführten Beobachtungen gewinnt es jedoch auch den Anschein, als ob die Widerstandsfähigkeit gegen Erhitzen ein nicht unwichtiges diagnostisches Merkmal abgebe.

---

1) Compt. rend. trav. Carlsberg Lab. T. III. 1894. p. 100.

2) Beobachtungen über die Sporen- und Glykogenbildung einiger Hefen auf Würzegelatine. (Centralbl. f. Bakt. etc. 2. Abt. Bd. II. 1896. p. 537.)

Die Erhitzungsversuche in Würze und Wasser wurden von H. Will angestellt.

Wie gewöhnlich ist im allgemeinen die Widerstandsfähigkeit jüngerer Kulturen geringer als diejenige älterer. Bei der Gruppe S. anomalus tritt aber als wesentliches Moment für die Widerstandsfähigkeit älterer und selbst jüngerer Kulturen hinzu, daß hier in vielen Fällen in den Kulturen Sporen gebildet werden. Bei den vorliegenden Varietäten geschieht dies bei II sehr frühzeitig und in sehr reichem Maße. S. anomalus IV dagegen bildet sehr schwer Sporen, gleichwohl ist die Widerstandsfähigkeit junger Kulturen sowohl beim Erhitzen in Wasser als auch in Würze eine größere als bei I und II. Es gewinnt hierdurch den Anschein, als ob die Widerstandsfähigkeit der vegetativen Zellen bei den verschiedenen Varietäten verschieden sei.

Für 2 Tage alte Kulturen von S. anomalus I liegt die Grenze der Widerstandsfähigkeit beim Erhitzen in Wasser zwischen 45 und 50° C; für S. anomalus III, welcher ebenfalls schwer Sporen bildet, zwischen 50 und 55° C; bei S. anomalus II war dieselbe jedoch infolge der vorhandenen Sporen weiter hinausgerückt. Bei den älteren in Wasser erhitzten Kulturen von I, III und IV, in welchen überall Sporen, wenn auch nur in geringer Zahl, aufzufinden waren, liegt die Grenze der Widerstandsfähigkeit zwischen 60 und 65° C, nur S. anomalus I, der auch in der Haut ungemein reichlich Sporen bildet, macht hier eine Ausnahme, indem die Grenze seiner Widerstandsfähigkeit gegen Erhitzen zwischen 60 und 70° C liegt. Dieselbe ist also bei der älteren Kultur noch weiter als bei der jüngeren heraufgerückt.

Die Widerstandsfähigkeit der in Würze erzogenen und erhitzten Kulturen weicht von derjenigen, welche gleichaltrige Häute beim Erhitzen in Wasser zeigen, ab; sie ist vielfach eine höhere. Bei den einen Tag alten Kulturen von S. anomalus I liegt die Grenze der Widerstandsfähigkeit zwischen 50 und 55° C gegenüber 45 und 50° C bei 2 Tage alten, in Wasser erhitzten Kulturen. Sporen konnten nicht konstatiert werden. Für S. anomalus II liegt die Grenze für die jüngeren Kulturen zwischen 60 und 70° C, also um 5 höher als bei den gleichalterigen, in Wasser erhitzten und den 14 Tage alten, ebenfalls in Würze erhitzten Häuten. Die Sporenbildung und die Beschaffenheit der Sporen spielt hier eine große Rolle. Offenbar geht, wie die mikroskopische Untersuchung gezeigt hat, unter den gegebenen Verhältnissen in älteren Kulturen ein Teil der Sporen zu Grunde, während andere das Erhitzen überleben. Es kann auch vorkommen, daß sämtliche Sporen absterben.

Bei S. anomalus III wurden in 3 Tage alten Häuten Sporen nicht beobachtet, gleichwohl wurde ein von dem bei der Erhitzung in Wasser erhaltenen Resultate abweichender Erfolg erzielt, indem die Grenze der Widerstandsfähigkeit bei S. anomalus III teilweise erst zwischen 60 und 65° C lag.

Bei älteren, in Würze erhitzten Kulturen lag die Grenze der Widerstandsfähigkeit in den meisten Fällen zwischen 60 und 65° C. Bei 14 Tage altem Materiale von S. anomalus II wurden beim

Erhitzen in Würze bei 60° C nur positive Resultate erzielt, während nach dem Erhitzen in Wasser bald positive, bald negative Resultate zu verzeichnen waren. Auch in ersterem Falle wurde nach dem Erhitzen bei 65° C bei einer ausgedehnteren Zahl von Versuchen dazwischen auch ein positives Resultat erhalten, und hat sich eine Uebereinstimmung mit den Versuchen in Wasser ergeben.

7. Verflüssigung von 10-proz. Würzegelatine.

Die Einsaat geschah in die verflüssigte Gelatine und ließ man letztere sowohl bei senkrechter Stellung der Reagenzröhren als auch bei schräger Lage derselben, um die Größe der Oberfläche zu vermehren, erstarren. In allen Fällen trat nur Oberflächenwachstum ein. Um die Zunahme der Konzentration der Gelatine, welche nach den Versuchen von H. Will von Einfluß auf die Schnelligkeit der Verflüssigung ist, zu verhüten, wurde von Zeit zu Zeit etwas steriles Wasser in die Reagenzröhrchen gegeben. Aus diesem Grund sind die Ergebnisse des Versuches mit anderen, bei welchen die Kulturen bis zur völligen Verflüssigung sich selbst überlassen waren, nicht direkt vergleichbar.

Varietät I. Bei den schräg erstarrten Röhrchen begann die Verflüssigung nach ca. 14 Tagen, nach 4 Wochen war die ganze Gelatine flüssig. Bei den in senkrechter Stellung erstarrten Kulturen war die Verflüssigung erst nach 6 Wochen beendet.

Varietät II, III, IV. In beiden Versuchsreihen war die Gelatine nach ca. 3 Monaten verflüssigt. Die Vergrößerung der Oberfläche hatte hierbei die Verflüssigung nicht beschleunigt. Demnach scheint die Energie, mit welcher S. anomalus I die Gelatine verflüssigt, größer zu sein als bei den übrigen Varietäten.

Eingehende Untersuchungen über die Proteolyse durch die 4 Varietäten bleiben vorbehalten.

Sämtliche durch die verschiedenen Anomalus-Varietäten verflüssigten Gelatinen reagierten mäßig sauer, ebenso alle Bierwürzen, in denen die Anomalus-Varietäten vegetiert hatten.

(Ref. hat bei einer Anomalus-Varietät auch schwach alkalische Reaktion der verflüssigten Gelatine konstatieren können. D. Ref.)

II. Teil. Verhalten von S. anomalus zu verschiedenen Zuckerarten.

Es war vorauszusehen, daß das Verhalten der einzelnen Varietäten zu den verschiedenen Zuckerarten nicht das gleiche sein würde. Um dies zu konstatieren, wurden umfangreiche Gärversuche angestellt. Als Nährlösungen kamen Hefeabkochungen in Anwendung, und zwar wurden 10 Proz. gepreßte Bierhefe mit Wasser $^1/_2$ Stunde gekocht. Dem Filtrat wurden die verschiedenen Zucker, gewöhnlich 10 Proz., hinzugefügt. Geprüft wurde das Verhalten gegenüber Saccharose, Dextrose, Maltose, Lävulose, Laktose und Galaktose.

Indem in Beziehung auf die umfangreichen analytischen Belege auf das Original verwiesen werden muß, beschränken wir uns hier nur auf die Mitteilung der aus den Versuchen gezogenen Schlußfolgerungen.

Varietät I.

1) S. anomalus I vergärt 10-proz. Lösungen von Saccharose, Dextrose und Lävulose vollständig.

2) S. anomalus I vergärt Maltose nicht, vermag aber sehr lange in Maltoselösungen zu vegetieren.

3) S. anomalus I vegetiert in Laktose- und Galaktoselösungen, ist aber nicht imstande, diese Zuckerarten zu vergären; er bildet nur Spuren von Alkohol.

4) S. anomalus I bildet in Zuckerlösungen, die er zu vergären vermag, reichlich Essigäther und Essigsäure neben etwas Buttersäure.

5) Gehopfte Bierwürze wird durch S. anomalus I nach längerer Vegetation merklich entfärbt.

6) Die Oberflächenhäute sind anfangs kreideweiß, später gelblich gefärbt.

Varietät II.

1) S. anomalus II invertiert und vergärt zwar sehr langsam, aber vollständig 10-proz. Rohrzuckerlösung.

2) S. anomalus II giebt in 10-proz. Lävuloselösung geringe Mengen (0,45 Proz.) Alkohol, doch treten Gärungserscheinungen niemals auf.

3) S. anomalus II vergärt weder Dextrose noch Laktose, Galaktose und Maltose. Er vermag in 10-proz. Lösungen höchstens Spuren von Alkohol zu bilden.

4) S. anomalus II erzeugt in keiner der untersuchten Zuckerlösungen Essigäther oder Fettsäuren. Spuren von Essig- und Buttersäure sind vorhanden.

5) In gehopfter Bierwürze erzeugt S. anomalus II eine ziemlich starke Entfärbung derselben.

6) Die Oberflächenhäute sind anfangs weiß, später meist rosa bis braunrot gefärbt.

Varietät III.

1) Nur in annähernd 10-proz. Lävuloselösungen sind nach 4 Wochen von S. anomalus III geringe Mengen von Alkohol gebildet worden (0,4 Proz.).

2) S. anomalus III ist nicht imstande, annähernd 10-proz. Lösungen von Saccharose, Dextrose, Laktose, Galaktose und Maltose zu vergären. Er erzeugt in solchen Zuckerlösungen nur Spuren von Alkohol.

3) S. anomalus III bildet keinen Essigäther oder Fettsäuren in nennenswerter Menge. Beim Destillieren eines größeren Quantums der Nährflüssigkeiten mit Wasserdampf gehen nur Spuren von Essig- und Buttersäure ins Destillat über. Bei Bierwürze ist die Acidität nach einmonatlicher Vegetation etwas gestiegen, nach 6 Monaten aber wieder etwas zurückgegangen. Es werden demnach durch S. anomalus III wohl geringe Mengen organischer Säure gebildet, doch werden dieselben später durch die Hefe weiter oxydiert. Bei Rohrzuckerlösung ist die ursprüngliche Acidität von 0,07 Proz. jedenfalls auch oxydiert worden. Die Nährflüssigkeit zeigte nach 6 Monaten neutrale Reaktion. In Laktoselösung war nach 4-wöchentlicher Vege-

tation von S. anomalus III die Reaktion schwach alkalisch geworden.

4) Bierwürze wird nach längerer Vegetation des S. anomalus III in derselben sehr merklich entfärbt.

5) Die Oberflächenhäute sind anfangs weiß, später gelblich.

Varietät IV.

1) Nur in 10-proz. Lävuloselösungen waren durch S. anomalus IV geringe Mengen von Alkohol gebildet worden (0,52 Proz.), jedoch waren Gärungserscheinungen nicht wahrnehmbar.

2) S. anomalus IV ist nicht imstande, Saccharose, Dextrose, Laktose, Galaktose und Maltose zu vergären. Bei der Destillation der mit S. anomalus IV geimpften Nährflüssigkeiten sind im Destillat nur Spuren von Alkohol vorhanden.

3) S. anomalus IV bildet keinen Essigäther oder Fettsäuren in nennenswerter Menge. Bei der Destillation größerer Mengen der mit S. anomalus IV geimpften Nährflüssigkeiten mit Wasserdampf gehen nur Spuren von Essig- und Buttersäure ins Destillat über. In ungehopfter Bierwürze ist die Acidität nach 14-tägigem Wachstum ziemlich gestiegen, um am Ende des Versuches auf den ursprünglichen Säuregehalt zu fallen. Es ist somit die geringe Menge der gebildeten Fettsäuren durch die Hefe weiter oxydiert worden. Auch bei S. anomalus IV ist in Laktose die anfangs schwach sauere Reaktion der Nährflüssigkeit in eine schwach alkalische übergegangen.

4) Gehopfte Bierwürze wird nach längerer Vegetation merklich entfärbt.

5) Die Oberflächenhäute sind anfangs weiß, später gelblich.

Nach allen Versuchen scheint also nur S. anomalus I in chemisch-physiologischer Beziehung Hefecharakter zu besitzen, teilweise auch noch S. anomalus II, da dieser nach längerer Zeit wenigstens Rohrzucker vergärt. S. anomalus III und IV verleugnen den Hefecharakter in dieser Beziehung vollständig. Um so größere Aehnlichkeit haben S. anomalus II, III und IV mit Mycoderma, denn sie sind imstande, in einem sterilen Bier mit 3,70 Proz. Alkohol binnen 14 Tagen den Alkohol vollständig zu oxydieren. S. anomalus II und III erzeugt hierbei auch noch etwas Essig- und Buttersäure; bei S. anomalus IV wird unter diesen Umständen der Alkohol ohne Bildung von Fettsäuren verbrannt. Auch hier zeigt S. anomalus I die geringste Oxydationsfähigkeit, indem in 14 Tagen nur $^1/_3$—$^1/_2$ des Alkoholgehaltes des Bieres verschwunden war.

III. Teil. Können die untersuchten Anomalus-Varietäten als Krankheitshefen auftreten?

Bei keiner der 4 untersuchten Varietäten sind in untergärigem Bier bei zahlreichen Gärversuchen Geschmacksverschlechterungen beobachtet worden. Sie sind also als Krankheitserreger nicht zu fürchten, umsoweniger, als bei den bei der Untergärung im Gärkeller eingehaltenen Temperaturen diese Hefen in der Regel mehr oder weniger unterdrückt werden. Das Luft- und Wärmebedürfnis derselben behindert ihre Entwickelung und Verbreitung, gleichwohl

kommen nach den Ergebnissen der vorliegenden Untersuchungen Anomalus-Varietäten im Brauereibetrieb häufig vor. Ohne eingehende Untersuchung werden dieselben wohl öfters mit Mycoderma verwechselt. H. Will (München).

Will, H., Einige Beobachtungen über die Lebensdauer getrockneter Hefe. IV. Nachtrag[1]).

Die beiden Holzkohlekonserven No. 9 und 10[2]) haben sich von allen im Jahre 1886 mit den verschiedenartigsten Beimischungen angefertigten Hefekonserven als die haltbarsten erwiesen. Eine wiederholte Prüfung derselben im Jahre 1899 nach Verlauf von 13 Jahren und 2 Monaten ließ erkennen, daß auch jetzt noch nicht alle Hefezellen abgestorben waren.

Schon bei den früher ausgeführten Untersuchungen war immer wieder die Beobachtung gemacht worden, daß die Gegenwart von Holzkohle, und zwar selbst relativ geringer Mengen, offenbar durch Absorption des Sauerstoffes die Entwickelung der noch lebensfähigen Zellen sichtlich behindert, mindestens sehr verlangsamt. Wenn überhaupt im Laufe der Zeit eine stärkere Vermehrung der Hefe stattgefunden hatte, so hatte sich dieselbe nicht am Boden der Versuchskolben entwickelt, wenn sich dort noch Kohlepartikelchen in etwas größerer Menge befanden, sondern am Rande der Flüssigkeit.

Die nähere Untersuchung der aus Konserve No. 9 entwickelten Hefe ergab nur mehr die Gegenwart von Kulturhefe; Konserve No. 10 enthielt vorherrschend wilde Hefe und nur mehr in Spuren Kulturhefe. In einzelnen Kulturen fand sich vorherrschend, wenn nicht ausschließlich, eine schon im II. Nachtrage erwähnte Hefe vor, welche dadurch charakterisiert ist, daß sie sich rasch zu großen Klumpen zusammenballt.

Offenbar hatte also im Verlaufe des 13. Jahres der Aufbewahrung der Konserven bei Ausschluß von Luft und bei niederer Temperatur eine weitere Abnahme von lebens- und entwickelungsfähigen Hefezellen stattgefunden.

Die Hefekonservierung mittels Holzkohle zum Transport in überseeische Länder scheint nach den vorliegenden Mitteilungen in den letzten Jahren öfters in Anwendung gebracht worden zu sein und zwar selbst unter den schwierigsten Verhältnissen mit sehr günstigem Erfolge.

Mit Erfolg werden sich für diesen Zweck Hefekonserven auch in der Weise herstellen lassen, daß man als Hauptzusatz Holzstoff wählt, während pulverisierte Holzkohle nur in verhältnismäßig geringer Menge beigemischt wird.

---

1) Mitteilungen der wissenschaftlichen Station für Brauerei in München. (Ztschr. f. d. gesamte Brauwesen. Bd. XXIII. 1900. p. 11—12.)

2) Vgl. dies. Centralbl. II. Abt. Bd. III. 1897. p. 17; Bd. IV. 1898. p. 485; Bd. V. 1899. p. 527.

Will, H., Einiges aus der Praxis des physiologischen Laboratoriums[1]).

Vortragender behandelt nach einem kurzen historischen Rückblick auf die Gesichtspunkte, welche früher bei der Untersuchung von Hefe und Bier maßgebend waren, im wesentlichen die verschiedenen Methoden, welche jetzt bei der Untersuchung von Hefe und Bier und Brauwasser in physiologischer und biologischer Hinsicht an der wissenschaftlichen Station für Brauerei zur Anwendung gelangen.

Erst durch das Eingreifen von Pasteur in die Zymotechnik ist ein Aufschwung hinsichtlich der Anwendung des Mikroskopes in den Gärungsgewerben im weiteren Sinne und speziell in der Brauerei zu verzeichnen. Eine völlige Umwälzung haben die bahnbrechenden Arbeiten von Hansen hervorgerufen.

Die Erweiterung der schon von Pasteur angebahnten Lehre von den Organismen, welche im Bier Krankheiten erzeugen, durch Hansen, welcher diese Lehre auch auf Hefenarten ausdehnte und deren Ausbau durch diesen Forscher und seine Schüler und die zymotechnischen Laboratorien haben dazu geführt, daß wir heute imstande sind, verhältnismäßig rasch und sicher diejenigen Organismen, insbesondere diejenigen Hefen zu erkennen, welche einer normalen Hefe oder Gärung und infolgedessen auch einem normalen Bier fremd sind.

Je mehr man sich mit normalen und abnormalen Bierhefen und Bieren beschäftigte, desto mehr trat das Bedürfnis in den Vordergrund, auch den verschiedenen organischen und anorganischen Beimengungen nachzugehen und dieselben eingehend zu studieren. Mit diesen Untersuchungen hat sich Vortragender Jahre hindurch beschäftigt. Damit hat auch die mikrochemische Untersuchung eine ausgedehnte Anwendung gefunden.

Die häufigsten Anfragen, welche aus der Praxis an das Laboratorium herantreten, betreffen die Reinheit einer Bierhefe, eines Faßgelägers, einer Reinzucht aus dem Propagierungsapparate, weiter die Ursache von Biertrübungen.

Vortragender führt den Gang der Untersuchung näher aus.

Zunächst wird eine mikroskopische Untersuchung vorgenommen, wobei auf die Gleichmäßigkeit der Hefezellen hinsichtlich Form und Größe, außerdem auf die Beschaffenheit des Zellinhaltes geachtet wird. Ist die Probe mit wilder Hefe, mit Mycoderma, S. apiculatus und ähnlichen Organismen sowie mit Torula oder, was hier und da vorkommt, mit Konidien von Oidium lactis verunreinigt, so werden sich bei der Durchmusterung dem geübten Auge bald da, bald dort Zellen bemerkbar machen, die nach ihrer Größe und ihrer Form, durch das Lichtbrechungsvermögen des Inhaltes, durch eine gewisse regelmäßige Lagerung der Vakuolen, durch das Vorhandensein von 1—3 stark lichtbrechenden Körperchen an bestimmten Orten innerhalb des Plasmas der Zellen oder in den Vakuolen, durch eine sehr starke Membran — Konidien von Oidium

1) Mitteilungen der wissenschaftlichen Station für Brauerei in München. Vortrag auf der Generalversammlung 1899. (Ztschr. f. d. gesamte Brauwesen. Bd. XXII. 1899. No. 45—46. p. 611—615, 627—632.)

lactis, welche im übrigem den Hefen ähnliche Formen besitzen können — von der Hauptmasse der Zellen, der Bierhefe, abweichen.

Ungleichmäßigkeiten in der Form und Größe der Zellen der Bierhefe, wie sie als Rasseeigentümlichkeiten oder als Folge von Ernährungsstörungen auftreten, beeinträchtigen das Urteil, welches sonst schon aus der mikroskopischen Untersuchung zu gewinnen ist.

Das Auffinden von Bakterien wird unter Umständen durch Zusatz von 10-proz. Kalilauge zum Präparat erleichtert. Verwechslungen mit gewissen Eiweißausscheidungen, speziell den Glutinkörperchen, liegen trotzdem nahe.

In besonderen Fällen wird auch den der Hefe beigemengten Eiweißausscheidungen, speziell deren Form, Aufmerksamkeit zuzuwenden sein, indem sich aus derselben nicht unwichtige Schlüsse bei manchen Betriebsstörungen ziehen lassen.

Die mikroskopischen Beobachtungen werden noch durch die Sporenkultur kontrolliert. Hierzu wird die Hefe in besonderer Weise und zwar gleichzeitig nach zwei verschiedenen Methoden, die sich gegenseitig ergänzen, vorbereitet.

Das eine Mal wird eine möglichst große Menge der Hefe (mehrere Kubikcentimeter) in eine mit 4 Proz. Weinsäure versetzte 10-proz. Rohrzuckerlösung geimpft und 2×24 Stunden bei 25° in derselben belassen. Die Kulturhefe wird hierdurch mindestens geschwächt, nach Umständen — bei schon ursprünglich geschwächten Zellen — abgetötet, während die wilden Hefen, Mycoderma, Torula, S. apiculatus, Oidium u. s. w. lebend bleiben.

Die sauere Lösung wird nach Verlauf der angegebenen Zeit möglichst sorgfältig abgegossen und der Hefesatz in Würze übergeführt.

Wenn S. apiculatus nicht vorhanden ist, durch welchen die übrigen Hefen in der Entwickelung zurückgehalten werden und auf dessen Gegenwart schon aus der eigentümlichen Beschaffenheit des Hefeabsatzes geschlossen werden kann, so wird je nach der Zahl der lebenden Hefezellen, die Gärung in der Würze früher oder später eintreten und sich ein Bodensatz von Hefe bilden. Derselbe wird durch Sporenbildung geprüft.

Das Aussehen und die Beschaffenheit der Sporen ist entscheidend für die Frage, ob wilde Hefe vorhanden ist.

Die Kontrolle von Propagierungspräparaten wird ausschließlich mittels der Weinsäurebehandlung ausgeführt.

Giebt diese Methode der Untersuchung, abgesehen von den Bakterien, ein Bild von den überhaupt vorhandenen, die Hefe verunreinigenden Organismen, so erhalten wir durch die zweite, parallel angelegte ein Bild von der ungefähren Menge derselben. Wir sind hierdurch in den Stand gesetzt, in Verbindung mit den Resultaten einer sorgfältigen mikroskopischen Untersuchung der ursprünglichen Probe, ein ziemlich zutreffendes Bild über den Infektionsgrad abzugeben.

Bei der Untersuchung gewöhnlicher Brauereihefe wird in der Weise verfahren, daß eine größere Menge Hefe in Würze geimpft und zu 25° C gebracht wird. Nach etwa 24 Stunden, wenn die

Hauptgärung zu Ende geht, werden einige Kubikcentimeter der noch durch Hefe getrübten Würze in frische Würze übergeimpft und mit letzterer nach 24 Stunden in gleicher Weise wie das erste Mal verfahren. Hierdurch soll etwa vorhandene wilde Hefe, welche gegen Schluß der Gärung noch in der Würze suspendiert ist, mehr und mehr in den Vordergrund geschoben werden. Je stärker die Infektion ist, desto rascher wird im allgemeinen die wilde Hefe in die Erscheinung treten. Die Zahl der Ueberimpfungen, welche hierzu notwendig ist, gestattet uns, bis zu einem gewissen Grade auf die Stärke der Infektion zu schließen. Auch hier tritt zum Schlusse der Ueberimpfungen (wir nehmen nicht mehr als 3 vor) die Kontrolle durch Sporenkultur ein.

Der Gang der Untersuchung bei Feststellung von Biertrübungen schließt sich bei Trübung durch Organismen und Bestimmung von deren Art den bei der Untersuchung von Hefen eingehaltenen an.

Bei der Untersuchung hefetrüber Biere leistet die von P. Lindner ausgearbeitete Tröpfchenkultur dem weniger Geübten vorzügliche Dienste, um rasch zur Entscheidung darüber zu kommen, ob Kultur- oder wilde Hefe Mycoderma etc. vorhanden ist.

Trübungen durch organische Ausscheidungen werden auf mikrochemischem Wege nachgewiesen.

Bei Betriebsrevisionen spielt die Frage nach etwaigen Infektionsherden von bierschädlichen Organismen meist eine ganz hervorragende Rolle. Die regelmäßige Betriebskontrolle beschränkt sich auf die Probeentnahme von Würze auf den verschiedensten Wegen, welche sie vom Hopfenseiher ab bis in den Gärkeller und von hier in den Lagerkeller zu durchlaufen hat. Wir entnehmen die Proben in der Weise, daß wir Vacuumkolben durch Abbrechen der Spitze im Würze- oder Bierstrome öffnen.

Durch eine tägliche Revision werden die in der Würze durch die vorhandenen Keime auftretenden Veränderungen kontrolliert, soweit sie sich äußerlich durch Gärungserscheinungen, Bildung einer Haut oder eines Absatzes, Entfärbung, besondere Färbungen, Zähwerden etc. erkennbar machen.

Von Wichtigkeit ist hierbei die Feststellung der Zeit, welche vom Beginne der Probenahme bis zum ersten äußerlich wahrnehmbaren Auftreten von Organismen verstrichen ist, weil sich hieraus innerhalb gewisser Grenzen ein Rückschluß auf die Größe der Infektion ziehen läßt.

Nach Ablauf mehrerer Tage, wenn entweder alle Würzeproben derartige Veränderungen zeigen, daß aus denselben auf eine Infektion mit Sicherheit geschlossen werden darf oder wenn nach 8-tägiger Wartezeit derartige Erscheinungen nicht aufgetreten sind, werden die Proben zunächst mikroskopisch und dann, wie früher angegeben, physiologisch untersucht, entweder unter Anwendung der Sporenkultur oder mittels der Tröpfchenkultur. Letztere leistet auch hier wieder hinreichende und schnelle Dienste.

Die biologische Untersuchung von Brauereiwasser bedarf noch eines gründlichen Studiums und wesentlicher Verbesserungen, da gerade sehr bierschädliche Bakterienarten nicht in die Erscheinung

treten. Die jetzt allgemeiner übliche Methode (Einimpfen kleiner Wassermengen in Würze und Bier) giebt nur in gewisser Richtung brauchbare Anhaltspunkte für die Beurteilung, soweit es eben möglich ist, schon jetzt Wesentliches und Unwesentliches auseinanderzuhalten.

Von einer Reihe sehr häufig, man darf sogar sagen, fast regelmäßig aus Brauereiwässern sich entwickelnden Sproßpilzen, welche hauptsächlich der Gruppe Torula zugerechnet werden müssen, muß erst durch genaue Untersuchung festgestellt werden, ob sie bei der Beurteilung des Untersuchungsergebnisses zu berücksichtigen sind.

Eine Untersuchung speziell von Torula-Arten ist in dieser Richtung in Angriff genommen.

Referate.

Berthelot, M., Chimie végétale et agricole. (Station de chimie végétale de Meudon. 1883—1899. 4 Bde.) Paris (Masson & Cie.) 1899.

Das Buch vereinigt die in der Versuchsstation Meudon seit ihrer Gründung bis 1899 ausgeführten Arbeiten des Verf.'s; beigegeben sind ältere Abhandlungen, von denen einige bis ins Jahr 1853 zurückreichen. Andererseits finden sich auch neuere, hier zum ersten Male publizierte Arbeiten.

Der 1. Band enthält Abhandlungen über die Assimilation des Stickstoffes im Boden und in den Pflanzen. Eine kurze Geschichte der langjährigen Studien des Verf.'s über den Gegenstand ist vorangestellt. Außerdem sind in dem Bande die Abhandlungen über die Bindung des Stickstoffes der Atmosphäre durch organische Verbindungen und durch Pflanzen unter dem Einflusse atmosphärischer Elektricität schwacher Spannung zu finden. — Die Vereinigung dieser Arbeiten über den Stickstoff und die „Stickstoffbakterien“ in einem Bande wird von vielen Botanikern warm begrüßt werden.

In den anderen Bänden folgen: chemische Studien über die Entwickelungsphasen einjähriger Pflanzen; sehr zahlreiche Untersuchungen über das Vorhandensein und die Bedeutung der Elemente und ihrer Verbindungen in den Pflanzen, insbesondere über die Nitrate; Studien über die Oxalsäure, Kohlensäure und die Zuckerarten und ihre Rolle im Pflanzenhaushalte.

Der letzte Band bietet Arbeiten über die chemisch-analytischen Methoden bei pflanzenphysiologischen Untersuchungen, nicht zum geringen Teile über diejenigen, die der Verf. beim Studium der Assimilation des Stickstoffes anwandte. — Es sind hier noch einige kleinere Arbeiten beigefügt, so über den eigentümlichen Geruch der frisch gepflügten Erde u. a. m. Endlich werden die Untersuchungen über den Wein und das Weinbouquet wiedergegeben.

Am Schlusse eines jeden Bandes findet sich ein ausführliche In-

haltsangabe, es fehlt aber leider ein Gesamtregister. Namentlich für den 1. Band wäre ein Sachregister sehr wünschenswert gewesen.

Maurizio (Berlin).

Michaelis, Beiträge zur Kenntnis der thermophilen Bakterien. (Arch. f. Hyg. Bd. XXXVI. Heft 3.)

Verf. untersuchte das Wasser von verschiedenen Brunnen (Röhren- und Kesselbrunnen) in den Straßen Berlins auf das Vorkommen von thermophilen Bakterien.

Er fand dabei 4 bisher nicht beschriebene Arten, die er folgendermaßen bezeichnet:

1) Bacillus thermophilus aquatilis liquefaciens,
2) Bacillus thermophilus liquefaciens aërobius,
3) Bacillus thermophilus aquatilis chromogenes,
4) Bacillus thermophilus aquatilis anguinosus.

Es sind schlanke, 2—4 μ große Stäbchen mit Sporenbildung und Eigenbewegung. Sie zeigen keine Indolreaktion.

Mit Ausnahme von B. thermophilus aquatilis liquefac. aërobius, der weder Traubenzucker noch Milchzucker angreift, vergären sie Traubenzucker, aber nicht Milchzucker. Abgesehen von B. therm. liquef. aërobius, der obligat aërob ist, sind sie alle fakultativ anaërob. Sie färben sich nach der Gramschen Methode und sind für Mäuse nicht pathogen.

Für Reinkulturen dieser Bakterien liegt das Temperaturoptimum zwischen 50—60°, bei 57° wachsen sie üppig, haben gute Eigenbewegung, Sporenbildung, gutes Färbungs- und Gärungsvermögen. Bei 70° fanden sich bei allen Involutionsformen. Mit Ausnahme des B. thermoph. aquat. chromogenes zeigten sie bei 37° fast gar kein oder nur sehr spärliches Wachstum.

Uhlenhuth (Greifswald).

Effront, Jean, Die Diastasen und ihre Rolle in der Praxis. Deutsche Uebersetzung von Dr. Max Bücheler. Bd. I. Die Enzyme der Kohlehydrate und die Oxydasen. Leipzig und Wien (Fr. Deuticke) 1900.

Ein zusammenfassendes Werk über die Enzyme und ihre Bedeutung für die Industrie fehlte, und Effront's Werk, dessen erster, die Enzyme der Kohlehydrate und die sogenannten Oxydasen behandelnder Teil hier in deutscher Uebersetzung vorliegt, verdient den wärmsten Dank. Von den 23 Kapiteln desselben sind die ersten 4 allgemeineren Inhalts und behandeln: Allgemeines, Allgemeine Eigenschaften der Enzyme der Kohlehydrate, ihre Wirkungsweise und die Frage ihrer Individualität. Von den folgenden 3 behandeln das 5. und 6. Kapitel die Invertase, das 7. deren praktische Anwendung bei der Melassegärung. Den Amylasen sind das 8.—16. Kapitel gewidmet, die letzten davon der praktischen Anwendung der stärkeverzuckernden Enzyme bei der Mälzerei, Maltosefabrikation und Brauerei, bei der Brotgärung und in der Brennerei. Die Maltasen behandeln die 3 folgenden Kapitel, deren letztes die chinesische und japanische Hefe und ihre Verwertung beschreibt. Es folgen dann

noch die Trehalase, die Enzyme der Glyceride (Lipasen) und der Glykoside (Emulsin etc.), die Zymase Buchner's und endlich im letzten Kapitel die Oxydasen. Die glykosidspaltenden Enzyme sind nach Dafürhalten des Ref. wohl etwas zu kurz gekommen in der Behandlung, wahrscheinlich mit Rücksicht auf ihre zum Teil geringe Rolle in der Industrie. Am Schlusse jedes Kapitels ist die Litteratur, allerdings keineswegs vollständig, angegeben.

Dem Leser der deutschen Uebersetzung fällt die große Zahl der Druckfehler unangenehm auf, die leider nicht einmal in den chemischen Formeln vermieden sind (vergl. p. 49). Dazu kommt aber als noch viel störenderer Umstand die Unzahl von Gallicismen, welche der Uebersetzer sich hat zu schulden kommen lassen. Gleich im Titel fällt der Gallicismus „Diastasen" für das bei uns gebräuchliche „Enzyme" höchst unangenehm auf. Die „Sucrase" der Franzosen pflegen wir nicht als Sukrase, sondern als Invertase (Invertin) zu bezeichnen. „Figurierte" Fermente sind geformte Fermente oder besser Gärungsorganismen u. s. w. Ref. ist durch solche Stilleistungen veranlaßt zu fragen, aus welchen Gründen überhaupt eine Uebersetzung ins Deutsche nötig war. Jeder Interessent wäre sicher des Französischen soweit mächtig gewesen, um das Original ebenso und mit mehr Genuß zu gebrauchen als eine Uebersetzung in mangelhaftes Deutsch.

Behrens (Karlsruhe).

Buchner, H., Megele, L. und Rapp, R., Zur Kenntnis der Luftinfektion. (Arch. f. Hyg. Bd. XXXVI. p. 235.)

Die Autoren korrigieren zuerst einen historischen Irrtum Flügge gegenüber, indem sie angeben, daß durch Naegeli und den einen von ihnen (Buchner) bereits 1880 experimentell entschieden worden sei, eine Ablösung von Keimen durch Verdunstung von feuchten Substraten und nach dem Antrocknen auf fester Unterlage finde nicht statt bei intakter Oberfläche.

Hinsichtlich des Transportes von Keimen durch Luftströmungen führten von Naegeli und Buchner vor 19 Jahren angestellte Versuche zu dem Ergebnisse, daß trockene Stäubchen noch bei einer Luftbewegung von 2—3 mm per Sekunde fortbewegt werden. Flügge's nach anderer Methode gemachte zahlreichere Versuche bestätigen diese Ergebnisse.

Ueber die Luftgeschwindigkeiten, welche zum Transport feinster keimhaltiger Tröpfchen nötig sind, wurden mit einem schon 1879/80 gebrauchten Apparate mit Prodigiosus-Kulturen erneute Versuche angestellt. Die infizierte Luft wurde durch 10, 17 und 40 mm Durchmesser haltende Röhren gesaugt. Wie bei Flügge war bei 0,1 mm per Sekunde der untere Grenzpunkt für den Transport erreicht für die engsten Röhren; bei den weiten lag er etwas höher; die Gründe dieser Differenz liegen nicht klar.

Nahmen die Autoren zu den Transportversuchen verschieden große Keime und trafen sie die von Flügge bekannt gegebene Versuchsanordnung, so wurde der senkrechte Transport ermöglicht; bei einer Geschwindigkeit von 1,8 mm per Sekunde für Bierhefe, von

1,3 mm für Rosahefe und von 0,1 mm für Prodigiosus. Die Grenzgeschwindigkeit hängt also mit der Zellengröße zusammen.

Berechnet man für Hefezellen theoretisch nach der von Naegeli gegebenen Formel die erforderliche Luftgeschwindigkeit, so erhält man eine Zahl, welche die durch Beobachtung erhaltene um das 100fache übertrifft. Die Ursachen dieser Differenz sind den Autoren völlig unklar; jedenfalls liegen sie nicht im Sättigungsgrade der Atmosphäre und dem Wasserdampf, wie angestellte Versuche erwiesen.

Spirig (St. Gallen).

Déhérain et **Dupont**, Nouvelles études sur la fabrication du fumier de ferme (sur les pertes d'azote a l'état libre). (Annales agronomiques. T. XXV. 1899.)

Die Verff. behandeln die für Theorie und Praxis gleich wichtige Frage von der Entstehung des freien Stickstoffes bei der Gärung des Mistes und ziehen ferner auf Grund der gewonnenen Resultate Schlußfolgerungen, die beste Konservierungsmethode des Düngers betreffend. Als Endresultat finden sie, daß der Verlust an NH_3 und N_2 am besten vermieden wird, wenn man die Düngerstätte reichlich mit Jauche begießt — eine Methode, die eigentlich als neu nicht betrachtet werden kann. NH_3 wird bei dieser Behandlung nicht abgegeben, weil Ammoniumkarbonat, wie Déhérain schon früher gezeigt hat, in einer stark kohlensäurehaltigen Luft nicht dissociiert wird. Der größte Teil der Abhandlung behandelt die Frage vom Verlust an freiem Stickstoff. Es kann leider nicht behauptet werden, daß die Verff. in einer den heutigen Arbeitsmethoden entsprechenden Weise experimentiert haben, also nur mit genau bekannten Faktoren, d. h. zunächst mit Bakterienreinkulturen, mit genau bekannten Nährböden und unter bestimmten äußeren Verhältnissen, und erst nachher mit Mischkulturen, zusammengesetzten oder natürlichen Nährsubstraten u. s. w. Verff. haben halb verrotteten Mist benutzt. Nach der Analyse dieses Mistes haben sie einen Teil davon in Kolben eingeführt und teils anaërobisch in CO_2, teils aërobisch in einem Luftstrom (6 l pro Tag) gären lassen. Nach Beendigung der Versuche sind die Mistproben wieder analysiert worden und durch Differenzberechnung ist der Verlust an freiem Stickstoff bestimmt. Sowohl bei den anaëroben wie bei den aëroben Kulturen haben sie einen solchen Verlust konstatiert, allerdings, wie es dem Ref. scheint, ziemlich gering, und in den verschiedenen, an Zahl übrigens spärlichen Versuchen inkonstant. In den einzigen beiden aëroben Versuchen waren die verlorenen N-Mengen 0,02 bezw. 0,06 Proz. (von der gebrauchten Mistmenge. In einer Uebersichtstabelle berechnen die Verff. die Verluste auf die Stickstoffmenge und erreichen dadurch viel größere Zahlen); in den 3 anaëroben Versuchen sind die Verluste bezw. 0,055, 0,018 und 0,028 Proz. Diese Verluste sind so klein, daß die absoluten, durch Analyse gefundenen Differenzen wahrscheinlich nur 1—2 mg N gewesen sind. Leider sind die Analysenresultate nicht angegeben; ebensowenig ist die ganze Arbeitsmethode beschrieben. Kontrollanalysen, wodurch die Fehlergrenze bestimmt werden konnte, scheinen auch nicht ausgeführt gewesen zu sein.

Verff. meinen, nachgewiesen zu haben, daß die obenerwähnten Stickstoffverluste nur dann stattfinden, wenn außer Kohlensäure und Methan auch Wasserstoff durch die Gärung gebildet wird. Eine solche „mauvaise fermentation" vollzieht sich, wenn der Dünger zu wenig alkalisch ist; infolgedessen kann der Verlust an freiem Stickstoff ebenso wie der NH_3-Verlust durch Begießen mit Jauche verhindert werden. Die Verff. versprechen zum Schlusse, daß diese sehr wichtigen Resultate auch auf den Düngerstätten selbst geprüft werden sollen. Hj. Jensen (Karlsruhe).

Müller-Thurgau, H., Der Milchsäurestich der Obst- und Traubenweine. (Weinbau und Weinhandel. Jahrg. XVII. No. 51. p. 486; No. 52. p. 494—495.)

Während der Milchsäurestich im Wein zu den nur ausnahmsweise vorkommenden Krankheitserscheinungen gehört, ist er, wie Müller-Thurgau bereits früher nachwies, bei gewissen Obstweinen nicht nur häufig, sondern gehört für manche Sorten zu den normalen Eigenschaften, ohne die sie weit weniger wohlschmeckend sein würden. Die Produktion von Milchsäure ist auf verschiedene Bakterien zurückzuführen, alle scheinen sich aber insofern gleich zu verhalten, als sie empfindlich gegen Säure- und Gerbstoffe sind. Die Säurezunahme der Weine erfolgt um so rascher und steigt um so höher, je geringer anfänglich der Säuregehalt ist, außerdem läßt sie sich noch steigern durch einen Zuckerzusatz. So zeigt z. B. sterilisierter und dann infizierter Birnwein, nicht entsäuert, mit einem anfänglichen Säuregehalt von 2,55 ‰ zum Schlusse des Versuchs eine Gesamtsäure von 7,32 ‰, derselbe, aber vorher bis 1,14 ‰ entsäuert, 6,81 ‰, nicht entsäuert mit Zusatz von 0,5 Proz. Zucker 8,22 ‰ und entsäuert mit Zuckerzusatz 8,34 ‰.

Da vorläufig die Bedeutung der Milchsäuregärung für die Obstweine noch nicht genügend erforscht und die richtige Leitung derselben unter Vermeidung unangenehmer Nebenprodukte noch nicht bekannt ist, so wird sie vorläufig in der Praxis noch als Fehler betrachtet werden, für viele Weine auch in Zukunft ein Fehler bleiben. Daher erscheint es wünschenswert, sie verhindern zu können, was durch folgende Vorsichtsmaßregeln möglich ist:

1) Wahl und Mischung der Obstsorten, um einen genügend hohen Gehalt an Säure oder Gerbstoff zu erzielen.

2) Vermeiden einer Säure- oder Gerbstoffabnahme durch rechtzeitiges Ernten.

3) Richtiges Verfahren beim Mosten, so daß möglichst wenig Gerbstoff verschwindet.

4) Richtige Leitung der Gärung, um eine möglichst vollständige Zerlegung des Zuckers zu erzielen.

5) Frühzeitig von der Hefe abziehen, da dadurch einer Abnahme von Aepfelsäure vorgebeugt werden kann.

6) Bei säurearmen Mosten kann man durch mäßiges Einbrennen mit Schwefel vor der Gärung den Milchsäurestich wenn auch nicht ganz verhindern, so doch einschränken.

7) Pasteurisation des Obstsaftes und Vergären mit Reinhefe.

Appel (Charlottenburg).

Raciborski, M., Cryptogamae parasiticae in insula Java lectae exsiccatae. Fasciculus I. No. 1—50. Buitenzorg 1899.

Mit diesem ersten Fascikel beginnt Raciborski ein Exsiccatenwerk, das nach und nach die wichtigsten Pilze Javas umfassen soll. Dasselbe enthält: Weneda purpurea Rac., Woroninella Psophocarpi Rac., W. vulcanica Rac., Pythium vexans Fischer, Phytophthora Nicotianae Breda de Haan, Phytophthora Colocasiae Rac., Peronospora Maydis Rac., Rhizopus Artocarpi Rac., Elsinoe Canavalliae Rac., E. Antidesmae Rac., Oidium Tabaci Thüm., Stamnaria Equiseti (Pers.), Laestadia Theae Rac., Collestrichum Camelliae Massee, Hyponectria Pandani Rac., Physalospora Hibisci Rac., Phyllachora amphidyma Penz. et Sacc., Ph. Coicis Henn., Telimena Erythrinae Rac., Aldona Stella nigra Rac., Balansea Claviceps Speg., Epichloe Bambusae Pat., Ustilago Sacchari Rabh., Graphiola Phoenicis Poit., Uromyces Teperianus Sacc., U. appendiculatus Pers., U. Sacchari Krüger, Puccinia Thwaitesii Berk., P. Curculigo Rac., P. Pruni Pers., P. Prainiana Barcl., Hamaspora longissima Körn., Cronartium Kemangae Rac., Hemileopsis Strophanti Rac., H. Whrightiae Rac., Hemileia vastatrix Berk. et Br., Aecidium Cinnamomi Rac., Uredo Dioscoreae aculeatae Rac., U. Tectonae Rac., U. Cannae Wint., U. Acori Rac., Pachysterigma grisea Rac., Polyporus lucidus Fr., Ovularia Bixae Rac., Pestalozzia Palmarum Cooke, Thielaviopsis anacethicus Went., Ramularia Eriodendri Rac., R. Scaevolae Rac., Gleosporium Mangiferae Rac., Myxosporium candidissimum Rac., Septogloeum Arachidis Rac. — Wie aus dieser Liste ersichtlich, ist bereits eine ganze Anzahl Parasiten von Kulturpflanzen ausgegeben und damit ist die erste Gelegenheit geboten, sich ein reichlicheres und vielseitiges Material zu Studienzwecken zu verschaffen.

Appel (Charlottenburg).

Büsgen, M., Die Lebensweise des Kiefernharzgallspinners (Tortrix resinella L.). (Allgem. Forst- u. Jagdzeitung. 1898. Dez. p. 380—383.)

Das Harz schützt die Nadelhölzer gegen Tierfraß wie etwa die Raphiden gegen Beschädigungen durch Schnecken (Stahl). Wenn z. B. die jungen Larven des Harzrüsselkäfers (Pissodes Hercyniae) die Bäume angreifen, werden sie leicht vom Harz erstickt, welches aus den Löchern hervorquillt. Aehnliches gilt vom Hylesinus piniperda. Das bekannte Harzgehäuse der Tortrix wird meist an der Spitze der Triebe angelegt, weil der Schmetterling zur Eiablage die hellste Stelle aufsucht, was übrigens noch manche andere Insekten thun.

Das Insekt verläßt das harzige Gehäuse, wenn es von der Sonne erweicht wird. Tortrix macht sich das Harz also zu nutze.

Kolkwitz (Berlin).

Keller, C., Beobachtungen über die Lebensweise der Tannenwurzellaus (Pemphigus Poschingeri). (Schweizer. Zeitschr. f. Forstwesen. Jahrg. L. No. 8/9. p. 286—290.)

In neuerer Zeit ist auch in der Schweiz mehrfach die Tannenwurzellaus nachgewiesen worden. Keller wird dadurch veranlaßt, die Lebensgewohnheiten des Tieres näher zu untersuchen und speziell darauf zu prüfen, ob eine wirkliche Gefährdung der Koniferen in Aussicht steht.

Von den meisten Pflanzenläusen unterscheidet sich Pemphigus Poschingeri durch ihre große Beweglichkeit, die sich selbst auf hochtragende Weibchen erstreckt. Dies faßt Verf. als eine Anpassung an die häufigen Nachstellungen, denen das Tier ausgesetzt ist, auf. Die ungeflügelten Stammmütter überwintern als beinahe erwachsene, pathenogenetisierende Weibchen im Boden, und wandern nicht von einem Zwischenwirte zu. Im Laufe des Sommers ist die Vermehrung so, daß etwa alle 4 Wochen eine neue Generation erscheint. Sowohl die Frühjahrsstammmutter wie auch die Sommerweibchen sind lebendig gebärend, wobei sich etwa 7 Keimanlagen vorfinden. Daraus ergiebt sich, daß die Vermehrung keine allzu große ist, und da auch das Insekt nicht an derselben Stelle sitzen bleibt, scheint die Schädigung keine besonders große zu sein. In der That konnte K. auch keine infolge eines Befallenseins von Pemphigus Poschingeri getöteten Tannen auffinden.

Eine Einschränkung der Wurzellaus findet unter den natürlichen Verhältnissen durch die Bodenfauna statt, als wesentlichste Gegner treten dabei die Tausendfüßer auf. Appel (Charlottenburg).

Zürn, E., Wühlratten (Schermäuse) als Schädiger von Gartengewächsen, speziell von Obstgehölzen und ihre zweckmäßige Vernichtung. (Wochenbl. des landw. Vereins im Großherzogtum Baden. 1899. p. 374—376. 387—389. Aus: Pomologische Monatsh.)

An die Schilderung der Lebensweise des Nagers und der von ihm verursachten Beschädigungen wird eine Diskussion der Bekämpfungsweisen geknüpft. Zweifelhafte Ergebnisse zeitigt das Eingießen übelriechender Stoffe in die Röhren und das Ueberschwemmen mit Wasser, sowie das Ausräuchern oder mechanische Schutzwehren, wie z. B. gegrabene Dornzweige. Wegfangen und Wegschießen ist umständlich, sehr wirksam dagegen das Vergiften mit Arsenik in Sellerieknollen oder Möhren, wofür weitere Anleitung gegeben wird.

Arnold Jacobi (Berlin).

Entwickelungshemmung und Vernichtung der Bakterien etc.

Weber, Die Bekämpfung der Kiefernschütte im Regierungsbezirke der Pfalz. (Forstwissenschaftl. Centralbl. 1899. Heft 12. p. 625—634.)

Von allen Krankheiten unserer Forstgewächse hat die sogenannte Schütte die weitaus größte Verbreitung und Bedeutung. Wenn es auch immer noch einzelne Zweifler giebt, die ihre Entstehung durch das Auftreten von Lophodermium Pinastri als nicht erwiesen erachten, so zeigen doch andererseits die da und dort bereits mit Erfolg ausgeführten Bekämpfungsversuche mit Kupfermitteln, daß man es in der That mit einer Pilzkrankheit zu thun hat.

Ueber Versuche in dieser Richtung berichtet der Verf. und zieht dabei die gewöhnliche Bordelaiser Brühe, Kupferzucker- und Kupferklebekalk zum Vergleiche heran; außerdem beachtet er auch die entstehenden Kosten, die brauchbare Vergleichszahlen natürlich nur dann ergeben, wenn man von denen für Beschaffung des Wassers absieht, die ja an jedem Orte andere sein können.

Als wesentliche Resultate der pfälzer Versuche sind zu betrachten: daß auch dies Jahr bis zu einem gewissen Grade eine günstige Einwirkung auf die Gesunderhaltung der Kiefernverjüngungen durch Anwendung von Kupferpräparaten zu konstatieren war. Bei Saatbeeten und Saaten im ersten Jahre konnte dieser günstige Erfolg allerdings nur in einem einzelnen Falle konstatiert werden. Im allgemeinen zeigte sich die Bordelaiser Brühe in ihrer Wirkung dem Kupferzucker- (3 Proz.) und Kupferklebekalk (4 Proz.) überlegen.

Ueber die günstigste Zeit der Bespritzung steht noch nichts Sicheres fest, nur soll dieselbe nicht über Mitte August hinausgeschoben werden.

Der doppelte Zerstäuber fördert die Arbeit und vermindert die Kosten.

Diese relativ günstigen Ergebnisse zeigen, daß eine Einschränkung der durch die Schütte hervorgerufenen Verluste zu erhoffen ist; es zeigt sich aber auch deutlich, daß eine gründliche und umfassende Bearbeitung der ganzen Frage eine außerordentlich dankenswerte Aufgabe wäre.

Appel (Charlottenburg).

Neue Litteratur,

zusammengestellt von
San.-Rat Dr. Arthur Würzburg,
Bibliothekar im Kaiserl. Gesundheitsamte in Berlin.

Untersuchungsmethoden, Instrumente u. s. w.

Schewiakoff, W., A new method of staining cilia, flagella and other locomotor organs of protozoa. (Proceed. of the IV. internat. congress of zool. Cambridge 1899. p. 227—229.)

Systematik, Morphologie und Biologie.

Canestrini, G., Acari della Nuova Guinea. Ser. II. (Estr. d. Atti d. soc. veneto-trentina di scienze natur. Ser. II. Vol. III. Fasc. 2.) 8°. 8 p. Padova 1899.

Cavara, F., Osservazioni citologiche sulle „Entomophthoreae". (Nuovo Giorn. botan. ital. Vol. VI. 1899. No. 4. p. 411—466.)

Clark, J. F., On the toxic effect of deleterious agents on the germination and development of certain filamentous fungi. (Botan. Gaz. 1899. No. 5. p. 289—327.)

Ewert, Einige der Blatlaus ähnliche Pflanzenläuse. (Prosk. Obstbau-Ztg. 1899. Sept. p. 136—140.)

Holway, E. W. D., Some Californian uredineae. (Erythea. 1899. No. 10. p. 98.)

Hunter, S. J., The coccidae of Kansas. II. (Kansas univers. Quarterly. Vol. VIII. 1899. No. 2. p. 67—77.)

Jahn, E., Der Stand unserer Kenntnisse über die Schleimpilze. (Naturwissenschaftl. Rundschau. 1899. No. 42. p. 529—532.)

Johnson, G. M., Les levures à faible atténuation. (Petit. Journ. du brasseur. 1899. p. 110—112, 117—119.)

Lühe, M., Bemerkungen zu Ariola's neuestem Cestoden-Systeme. (Zool. Anzeiger. 1899. No. 604. p. 539—543.)

— —, Zur Kenntnis einiger Distomen. (Ibid. p. 524—539.)

Pozzi-Escot, E., Les levures. (Feuille vinic. de la Gironde.) (Vigne franç. 1899. No. 22, 24. p. 349—352, 373—375.)

Preußen. Ministerialerlaß, betr. die Beaufsichtigung der Herstellung und des Vertriebes von Getreidepreßhefe. Vom 7. November 1899. (Veröffentl. d. kaiserl. Gesundh.-A. 1899. No. 50. p. 1108—1109.)

Trotter, A., Contributo alla conoscenza degli entomocecidi italiani con la descrizione di due specie nuove di Andricus. (Riv. di patol. veget. 1899. No. 9—12.)

Beziehungen der Bakterien und Parasiten zur unbelebten Natur.

Nahrungs- und Genußmittel, Gebrauchsgegenstände.

Bier, Brauerei.

Aubry, Ueber die Verwertung der in der Brauerei abfallenden und nicht mehr zum Anstellen gebrauchten Hefe. (Ztschr. f. d. ges. Brauwesen. 1899. No. 51. p. 699—700.)

Van den Schrieck, H., La levure pure et son emploi en brasserie. (Bullet. de l'assoc. d. anciens élèves de l'école de brasserie de Louvain. 1899. p. 192—195.)

Andere Nahrungs- und Genußmittel.

Reh, L., Europäische Schildläuse auf Obst. (Illustr. Ztschr. f. Entomol. 1899. No. 23. p. 361.)

Rodzianko, W. N., Ueber einige in Aepfeln und Birnen lebende Insekten. (Nachricht. d. südruss. Akklimat.-Ges. 1899. April. p. 32—36.) [Russisch.]

Beziehungen der Bakterien und Parasiten zu Pflanzen.

Harmlose Bakterien und Parasiten.

Cavara, F., Di due microorganismi utili per l'agricoltura. (Bullett. d. soc. botan. ital. 1899. No. 7/8. p. 241—243.)

Krankheitserregende Bakterien und Parasiten.

Berlese, A., La tignuola del melo (Hyponomeuta malinella Zell.). (Bollett. d. entomol. agrar. 1898. No. 5. p. 73—75.)
Capus, J., Observations sur les dégats dus au „Drosophila funebris". (Rev. de viticult. 1899. No. 313. p. 694—697.)
Carleton, M. A., Cereal rusts of the United States. A physiological investigation. (U. S. Departm. of agricult. Divis. of vegetable physiol. and pathol. 1899. Bullet. No. 16.) 8°. 73 p. Washington 1899.
Convert, F., La viticulture après 1870. I. L'invasion phylloxérique. (Rev. de viticult. 1899. No. 312. p. 661—665.)
Damseaux, A. et **Laurent, E.**, Contre la carie. (Union. 1899. p. 453—454.)
Dern, Ueber die Anpflanzung von amerikanischen Reben als Mittel zum Schutze gegen die Reblauskrankheit. (Ztschr. f. d. landwirtschaftl. Vereine d. Großh. Hessen. 1899. No. 47. p. 604—608.)
Derwa, Pr., De hamster of koornwijfke. (Landbouwblad van Limburg. 1899. p. 472 —473.)
Frank, Der Gürtelschorf der Zuckerrübe. (Blätter f. Zuckerrübenbau. 1899. No. 23. p. 353—356.)
Green E. E., On a new tea pest from India (Cerococcus ficoides n. sp.). (Entom. monthly magaz. 1899. Oct. p. 225—226.)
Huet, G. D., Destruction du ver des poireaux et des chenilles du chou. (Bullet. de la soc. roy. linnéenne de Bruxelles. 1899. No. 7, 8.)
de Kayser, F., Het besproeien der aardappels. (Landbouwgalm. 1899. No. 25.)
Kornauth, K., Untersuchungen über die Wirkung verschiedener Bekämpfungsmittel gegen Pflanzenläuse. (Ztschr. f. d. landwirtschaftl. Versuchswesen in Oesterreich. 1899. Heft 6. p. 530—536.)
Leonardi, G., Insetti dannosi al tabacco in erba. (Bollett. d. entomol. agrar. 1898. No. 11. p. 178—184.)
Ludwig, Zur Verbreitung der Pilzflüsse der Bäume. (Prakt. Blätter f. Pflanzenschutz. 1899. Heft 12. p. 90—91.)
Marlatt, C. L., A dangerous European scale insect not hitherto reported, but already well established in this country (Aspidiotus ostreaeformis Curtis). (Science. N. S. Vol. XX. 1899. No. 236. p. 18—20.)
Massalongo, C., Di un probabile nuovo tipo di galle. (Bullett. d. soc. botan. ital. 1899. No. 7/8. p. 161—162.)
— —, Di due galle raccolte in Siberia ed in Lapponia da S. Sommier. (Ibid. p. 162 —164.)
— —, Sopra una nuova malattia dei frutti del fajiuolo. (Ibid. p. 239—240.)
Molliard, M., Sur la galle de l'Aulax Papaveris Pers. (Rev. génér. de botan. 1899. No. 126. p. 209—217.)
Nestler, A., Ueber das Vorkommen von Pilzen in Wachholderbeeren. (Ber. d. dtsch. botan. Gesellsch. 1899. Heft 8. p. 320—325.)
Noel, P., Une noctuelle qui attaque la vigne. (Vigne franç. 1899. No. 21. p. 334—336.)
Nüfslin, Die Tannenwurzellaus. Pemphigus (Holzneria) Poschingeri Holzner. (Allg. Forst- u. Jagd-Ztg. 1899. Dez. p. 402—408.)
Quaintance, A. L., Some important insect enemies of cucurbits. (Georgia experim. stat. Bullet. 45. p. 25—50.) gr. 8°. Atlanta, Ga. 1899.
Rivière, G., Le phylloxéra. (Bullet. de la soc. roy. linnéenne de Bruxelles. 1899. No. 7—9.)
Rofs, H., Der Ahornrunzelschorf (Rhytisma acerinum Pers.). (Prakt. Blätter f. Pflanzenschutz. 1899. Heft 12. p. 91—93.)
Schreiber, P., Le puceron lanigère. (Belgique hortic. et agric. 1899. p. 283.)
Stand der Reblausangelegenheit im Kanton Zürich im Jahre 1899. (Schweiz. Ztschr. f. Obst- u. Weinbau. 1899. No. 22. p. 361—365.)
Thomas, E., La carie des céréales. (Journ. de la soc. roy. agric. de l'est de la Belgique. 1899. p. 157—158.)
Trotter, A., Credette Redi davvero, che le galle e i produttori di esse fossero generati da „un' anima vegetativa" delle piante? (Bullett. d. soc. veneto-trentina di scienze natur. T. VI. 1899. No. 4.)
Webster, F. M., The tobacco flea-beetle (Epitrix parvula) attacking tobacco in barn. (Canad. entomol. 1899. No. 7. p. 194—195.)

Weifs, Die Schwarzfleckigkeit der Rosen (Actinonema Rosae). (Prakt. Blätter f. Pflanzenschutz. 1900. Heft 1. p. 3—4.)

Wenisch, F., Die Blattseuche der Süßkirschen (Gnomonia erythrostoma Fuckel). (Obstgarten. 1900. No. 1. p. 5.)

Württemberg. Verfügung des Ministeriums des Innern, betr. die Vollziehung des Reichsgesetzes über die Abwehr und Unterdrückung der Reblauskrankheit vom 3. Juli 1883 und des Ausführungsgesetzes vom 3. Mai 1885. Vom 5. Dezember 1899. (Reg.-Bl. 1899. No. 47. p. 1079—1080.)

Inhalt.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.

CENTRALBLATT
für
Bakteriologie, Parasitenkunde u. Infektionskrankheiten.

Zweite Abteilung:
Allgemeine, landwirtschaftlich-technologische Bakteriologie, Gärungsphysiologie, Pflanzenpathologie und Pflanzenschutz.

In Verbindung mit
Prof. Dr. **Adametz** in Wien, Prof. Dr. **J. Behrens** in Karlsruhe i. B., Prof. Dr. **M. W. Beijerinck** in Delft, Geh. Regierungsrat Prof. Dr. **A. B. Frank** in Berlin, Dr. **v. Freudenreich** in Bern, Privatdocent Dr. **Lindau** in Berlin, Prof. Dr. **Lindner** in Berlin, Dr. **Morris**, Chef des Hansen-Laboratory, Jenner-Institute of Preventive Medicine in London, Prof. Dr. **Müller-Thurgau** in Wädensweil, Dr. **Erwin F. Smith** in Washington, D. C., U. S. A., Prof. Dr. **Stutzer** in Breslau, Prof. Dr. **Wehmer** in Hannover, Prof. Dr. **Weigmann** in Kiel und Prof. Dr. **Winogradsky** in St. Petersburg
herausgegeben von
Dr. O. Uhlworm in Cassel
und
Prof. Dr. Emil Christian Hansen in Kopenhagen.

Verlag von Gustav Fischer in Jena.

VI. Bd. Jena, den 12. April 1900. **No. 8.**

Jährlich erscheinen 26 Nummern. Preis für den Band (Jahrgang) 20 Mark. Preis für eine einfache Nummer 75 Pfg., für eine Doppelnummer 1 Mark 50 Pfg. Nummern mit Tafeln kosten für jede Tafel 50 Pfg. mehr.
Hierzu als regelmäfsige Beilage die Inhaltsübersichten der I. Abteilung des Centralblattes.

Wünsche wegen Lieferung von besonderen Abdrücken wollen die Herren Mitarbeiter auf die Manuskripte schreiben oder bei Rücksendung der ersten Korrekturabzüge der Verlagsbuchhandlung mitteilen.

Original-Mitteilungen. *Nachdruck verboten.*

Ist die Enzymbildung bei den Alkoholgärungspilzen ein verwertbares Artmerkmal?

Von **Alb. Klöcker**, Assistent am Carlsberg Laboratorium, Kopenhagen.

Dubourg teilt in einer Abhandlung mit dem Titel „De la fermentation des saccharides“ in „Compt. rend. de l'Acad. des Sc.“. T. CXXVIII. 1899. p. 440 mit, daß solche Alkoholgärungspilze, welche „anscheinend keine Inversionsfähigkeit“ besitzen und „deshalb sich nicht in Saccharoselösungen entwickeln und darin Gärung hervor-

rufen können", sollen dazu gebracht werden können, indem die Bildung von Invertin durch Züchtung in folgender Weise hervorgerufen werden soll:

Eine Portion Hefe wird in einer an Stickstoff reichen Nährflüssigkeit (Hefewasser) herangezüchtet, in welcher 5 Proz. Traubenzucker und 5 Proz. Rohrzucker gelöst sind. Wenn die Gärung vorüber zu sein scheint, wird die Flüssigkeit vorsichtig abgegossen und die Bodensatzhefe 1- oder 2mal mit sterilisiertem Wasser ausgewaschen. Wenn die derart ausgewaschene Hefe in eine Nährflüssigkeit mit Saccharose eingebracht wird, soll letztere jetzt nach 24 Stunden invertiert werden und die Gärung lebhaft sein. Ferner teilt Dubourg mit, daß er dasselbe Experiment mit Galaktose gemacht hat, und daß die von ihm untersuchten Zuckerarten, „direkt invertierbar oder nicht", allen den von ihm geprüften Hefearten gegenüber sich in derselben Weise wie oben beschrieben verhielten. Unter den Zuckerarten macht Laktose doch eine Ausnahme und unter den Alkoholgärungspilzen mißlang der Versuch mit Mucor alternans. Er schließt seine Abhandlung mit der folgenden Aeußerung ab: „Das Phänomen scheint also unter den Hefen allgemein zu sein." Seine Abhandlung ist nicht in anderer Weise zu verstehen, als daß er der Meinung sei, eine Methode entdeckt zu haben, mittels welcher die Alkoholgärungspilze im allgemeinen (und darunter auch Saccharomyces) durch die von ihm angegebene Züchtungsmethode zur Entwickelung irgend eines Enzyms, welches sie bisher nicht besaßen, gebracht werden können. Derart hat Duclaux auch seine Abhandlung aufgefaßt.

Außer verschiedenen Unklarheiten hat Dubourg's Mitteilung auch den Mangel, daß diejenigen Arten, mit welchen er seine Experimente anstellte, nicht angegeben sind. Ferner bekommt man keine nähere Aufklärung, inwieweit diejenigen Arten, mit welchem er experimentierte, vollständig ohne diejenigen Enzyme waren, in deren Besitz sie später kamen, oder sie nur dieselben in sehr geringer Menge entwickelt haben. Denn enthält die Hefeart das betreffende Enzym, wenn auch nur in sehr geringer Menge, so ist es an und für sich nicht merkwürdig, daß die Funktion eine Zeit lang wegen Abschwächung zurückgedrängt werden kann und daß umgekehrt die Menge des Enzyms durch eine kräftige Ernährung der Zelle, in casu durch Züchtung in Hefewasser, erhöht werden kann. Man kann aber nicht daraus schließen, daß Arten, welche gar nicht das betreffende Enzym besitzen, durch eine bestimmte Züchtung zur Entwickelung desselben gebracht werden können. Dubourg hätte mit bekannten Arten experimentiert haben sollen, von welchen man weiß, daß das betreffende Enzym ihnen vollständig fehlt; seine Versuche würden dann klar gewesen sein und leichter Nachprüfung gestattet haben. Es war alle Ursache vorhanden, solche Arten, wie Saccharomyces Marxianus und S. apiculatus, zu prüfen; nach den Untersuchungen zahlreicher Forscher enthält erstere keine Maltase und letztere weder diese noch Invertin; alle beide wären also ausgezeichnete Versuchsobjekte gewesen.

Da man also nicht weiß, mit welchen Arten Dubourg experimentiert hat, und da seine ganze Abhandlung in mehr oder minder

schwebenden Ausdrücken („action inversaire apparente“, „il parait que“ u. s. w.) gehalten ist, würde insofern keine Ursache vorhanden gewesen sein, Kontrollversuche anzustellen, wenn nicht Duclaux in seine „Traité de microbiologie“. T. III die Dubourg'schen Resultate aufgenommen, sie sogar zu einem allgemein giltigen Gesetz erhoben und sie zur Bekräftigung derjenigen Anschauung benutzt hätte, daß das Verhalten der Hefen den Zuckerarten gegenüber nicht als Charakter zur Unterscheidung der Arten benutzt werden kann. Er spricht im ganzen ein Verwerfungsurteil über die systematischen Arbeiten auf dem Gebiete der Mikrobiologie aus, sowohl auf dem der Bakterien als auch auf dem der Hefepilze. In einem Referate seiner obengenannten Arbeit, welches an anderer Stelle in dieser No. dieses Centralbl. publiziert wird, habe ich die Reihe der Mißverständnisse näher beleuchtet, welche er sich hier zu schulden kommen gelassen hat. Hier werden wir uns nur mit dem Verhalten der Hefen zu den Zuckerarten beschäftigen, und meine Untersuchungen haben aufs neue bestätigt, daß wir hier einen der konstantesten Charaktere haben; die Untersuchungen Dubourg's haben dies lange nicht widerlegt, sondern im Gegenteil dazu beigetragen, dies näher festzustellen.

Meine Versuche stellte ich mit den folgenden 3 Arten an, welche alle zur Disposition für diejenigen stehen, welche eine Nachprüfung anzustellen wünschen: Saccharomyces apiculatus, eine neue Species von einem typischen Saccharomyces, welcher in dem Magen einer Biene gefunden wurde, und S. Marxianus. Ich wählte die erstgenannte Art, weil sie von besonderer Bedeutung ist, da sie sich in jedem Laboratorium findet; die zweite Art nahm ich mit, weil sie ein typischer, nicht Invertin ausscheidender Saccharomyces ist, und S. Marxianus war von Interesse zu untersuchen, da es sich um die Bildung von dem Enzyme Maltase und um die Vergärung der Maltose handelte, eine Zuckerart, die zwar nicht von Dubourg speziell genannt wird, die aber unter das „Gesetz“ gerechnet werden muß.

Das Resultat meiner Versuche wurde, wie zu erwarten war, das entgegengesetzte von denjenigen Dubourg's. Unsere Kenntnis von dem Verhalten des S. apiculatus und des S. Marxianus zu den Zuckerarten verdanken wir, wie bekannt, den Untersuchungen Hansen's aus den Jahren 1881 und 1888. Die Richtigkeit seiner Resultate ist später von mehreren anderen Forschern bestätigt worden. Ich habe im Jahre 1895, nachdem also die beiden genannten Arten eine Reihe von Jahren hindurch, und zwar unter den verschiedensten Verhältnissen, gezüchtet worden waren, sie einer Nachprüfung unterworfen und dargethan, daß sie sich im Laufe dieser Zeit nicht geändert hatten, sondern daß sie immer noch nicht imstande waren, Maltose bezw. Saccharose zu vergären. Ebenfalls haben auch Emil Fischer und seine Mitarbeiter durch ihre Nachprüfungen die Hansen'schen Angaben bestätigen können. Bei Anstellung von Versuchen aber in ähnlicher Richtung wie Dubourg erhielten sie nur negative Resultate.

Versuche mit Saccharomyces apiculatus.

Der Versuch ging also darauf aus, die Art nach Dubourg's Anweisung derart zu züchten, daß sie zum Invertieren einer Saccharoselösung befähigt wurde.

Eine junge, kräftige Vegetation, welche im Laufe von 3 Tagen bei 25° C in einer Lösung von Dextrose und Saccharose in Hefewasser gezüchtet worden war, wurde in Hefewasser mit 5 Proz. Dextrose und 5 Proz. Saccharose ausgesät. Nach 5-tägigem Stehen bei 25° C wurde die Flüssigkeit abgegossen und die Bodensatzhefe im Laufe einiger Stunden 1mal mit sterilem Wasser bei 3° C ausgewaschen. Mit der derart ausgewaschenen Hefe wurde ein Kolben mit Hefewasser mit 10 Proz. Saccharose und ein anderer mit Hefewasser mit 5 Proz. Dextrose und 5 Proz. Saccharose zur fortgesetzten Züchtung infiziert.

Die Kultur in dem Saccharosehefewasser bei 25° C wurde täglich auf einen Inhalt von Invertzucker mit Hilfe der Fehling'schen Lösung geprüft. Noch nach 9 Tagen erschien keine Spur von Reduktion und eine Inversion hatte also nicht stattgefunden.

Nachdem die Art das zweite Mal in Hefewasser mit 5 Proz. Dextrose und 5 Proz. Saccharose 6 Tage hindurch bei 25° C gezüchtet worden war, wurde die Flüssigkeit abgegossen und die Bodensatzhefe wurde, ohne ausgewaschen zu werden (um nicht eventuell gebildetes Invertin zu entfernen), in Hefewasser mit 10 Proz. Saccharose ausgesät und bei 25° C hingestellt, aber auch jetzt war die Art nicht imstande, die Saccharose zu invertieren.

Versuche mit Saccharomyces n. sp., aus Bienen isoliert.

Die Versuche wurden mit dieser Art ganz in derselben Weise wie mit der obengenannten angestellt. Nur wurde nach der zweiten Züchtung in Dextrose-Saccharosehefewasser eine Auswaschung mit Saccharosehefewasser statt mit Wasser unternommen. Aber ebenso wie S. apiculatus konnte auch diese Art nicht zum Invertieren des Zuckers gebracht werden.

Versuche mit Saccharomyces Marxianus.

Eine junge, kräftige, in einer Mischung von Würze und Dextrosehefewasser im Laufe von 3 Tagen bei 25° C herangezüchtete Vegetation wurde als Aussaat in mit 5 Proz. Dextrose und 5 Proz. Maltose versetztem Hefewasser benutzt. Nach 5 Tagen bei 25° C zeigte die Kultur kein Zeichen der Gärung mehr; die Flüssigkeit wurde abgegossen und die Bodensatzhefe mit sterilem Wasser 1mal im Laufe einiger Stunden bei 3° C ausgewaschen. Die derartig ausgewaschene Hefe wurde teils in Hefewasser mit 5 Proz. Maltose, teils in Hefewasser mit 5 Proz. Dextrose und 5 Proz. Maltose ausgesät.

Nach dem Verlaufe von 9 Tagen bei 25° C war keine Spur von Alkohol in dem Maltosehefewasser gebildet (keine Tropfenreaktion, keine Jodoformreaktion).

Nachdem der letztinfizierte Kolben mit Hefewasser mit 5 Proz.

Dextrose und 5 Proz. Maltose 9 Tage bei 25° C gestanden hatte, wurde die Flüssigkeit abgegossen und die Bodensatzhefe, wie oben beschrieben, mit sterilisiertem Wasser ausgewaschen. Die ausgewaschene Hefe wurde dann wieder in Maltosehefewasser ausgesät, aber auch diesmal wurde Alkohol nicht gebildet.

S. Marxianus vermag also die Maltose nicht zu vergären, selbst wenn er im voraus nach dem Dubourgschen Verfahren gezüchtet wird.

In den oben beschriebenen Versuchen wurde also nicht nur Dubourg's Verfahren nachgeahmt, sondern ich ging noch einen Schritt weiter, indem ich die Züchtung wiederholte und in betreff der zwei erstgenannten Arten keine Auswaschung der Hefe unternahm. Nichtsdestoweniger erhielt ich immer ein negatives Resultat.

Resultat:

Die Angabe Dubourg's, daß Hefepilze bei dem von ihm angegebenen Verfahren zur Bildung eines Enzyms, welches sie bisher nicht besaßen, gebracht werden können, ist falsch. Infolgedessen ist die auf Dubourg's Untersuchungen gebaute Schlußfolgerung Duclaux', daß das Verhalten der Alkoholgärungspilze zu den Zuckerarten nicht als Artmerkmal gebraucht werden kann, nicht stichhaltig. Im Gegenteil ist die Enzymbildung der Alkoholgärungspilze einer der am meisten konstanten Artcharaktere, welche wir besitzen.

Kopenhagen, Februar 1900.

Ueber einige in reifen Käsen gefundene Milchsäurebakterien.

[Aus dem milchwirtschaftlich-chemischen und bakteriologischen Laboratorium des landwirtschaftlichen Instituts der Universität Göttingen.]

Von **G. Leichmann** und **S. v. Bazarewski.**

In der Absicht, einen kleinen Beitrag zur Kenntnis der Bakterienflora der Käse zu liefern, untersuchten wir je eine Probe eines Emmenthaler-, eines Chester- und eines Goudakäses, die wir uns aus hiesigen Verkaufsstellen verschafft hatten.

Bei der Untersuchung verfuhren wir derart, daß wir eine kleine Probe aus der Mitte eines größeren Käsestückes aseptisch entnahmen, diese in steriler Bouillon möglichst fein verteilten und mit den so gewonnenen Emulsionen Molkegelatineplatten in der üblichen Weise infizierten.

Auf unseren Kulturplatten, die bei mittlerer Zimmerwärme aufbewahrt wurden, traten auf der einen früher, auf der anderen später, im allgemeinen erst nach Verlauf von 1—2 Wochen kleine runde Kolonieen, und zwar in relativ bedeutender Zahl hervor, die auf den dünn besäten Platten langsam bis zur Größe kleiner Stecknadelköpfe heranwuchsen.

Sämtliche Kolonieen auf den verschiedenen, mit Emulsionen der 3 Käse besäten Platten waren einander sehr ähnlich und zeigten im wesentlichen das typische Bild der Plattenkolonieen des *Bacterium lactis acidi* Leichmann.

Von den ausgebildeten Kolonieen wurde Impfstoff für Stichkulturen entnommen.

Die in sehr großer Zahl angelegten Stichkulturen in Molkegelatine entwickelten sich alle untereinander fast völlig übereinstimmend, und zwar in derselben Weise, wie die mit *Bacterium lactis acidi* infizierten Stichkulturen sich zu entwickeln pflegen.

Ferner wurden dann noch Uebertragungen aus allen Stichkulturen auf sterile, in Röhrchen befindliche Milch vorgenommen und die infizierten Flüssigkeiten bei ca. 30 ° C im Thermostaten gehalten. Hierbei zeigte es sich, daß alle in unseren Stichkulturen enthaltenen Organismen befähigt waren, Säuerung und Koagulation der Milch zu bewirken, und zwar alle wie *Bacterium lactis acidi* ohne Entwickelung von Gasen; daß aber das Eintreten der Gerinnung in den meisten Fällen längere Zeit in Anspruch nahm, als es bei dem Bakterium der sauren Milch, wenn dieses unter denselben Bedingungen in steriler Milch kultiviert wird, gewöhnlich der Fall ist.

Die mikroskopische Untersuchung der infizierten und geronnenen Milchproben zeigte alsbald, daß die meisten Kulturstämme morphologisch von *Bacterium lactis acidi* durchaus verschieden sind.

Unter den in dem Emmenthalerkäse gefundenen Organismen waren weitaus vorwiegend schlanke, längliche, oft kettenbildende Stäbchen vertreten und in geringer Zahl kleine, gelegentlich kettenbildende Kokken. Da nun die sämtlichen Stäbchen untereinander einerseits, die Kokken andererseits nach Form und Kulturmerkmalen identisch zu sein schienen, führten wir nur je eine Kultur der Stäbchen und eine der Kokken zu näherer Untersuchung weiter fort und bezeichneten provisorisch jene als

Bacterium casei I,

diese als

Streptococcus casei.

Aus dem Chesterkäse waren ebenfalls vorwiegend schlanke, längliche Stäbchen isoliert worden, die denjenigen des Emmenthalerkäses in jeder Beziehung sehr ähnlich waren; daneben aber auch sehr zahlreiche Kokken. Wir wählten lediglich eine Kultur zur näheren Prüfung aus, welche die Stäbchen enthielt:

Bacterium casei II.

Der Goudakäse schließlich hatte längliche, den erwähnten ähnliche Stäbchen und ovale Kurzstäbchen ergeben. Von den ersteren wurden 2 Kulturstämme weitergeführt, die sich in der Folge als identisch erwiesen,

Bacterium casei III (1 und 2),

von den letzteren ein Stamm, den wir als

Bacterium casei IV

vorläufig bezeichneten.

Wir lassen nun die Beschreibung der einzelnen Kulturstämme folgen, wobei wir auf eine eingehendere Schilderung der Kulturmerk-

male verzichten können, indem alle diese Formen, wie schon angedeutet und wie es bei genauerer Untersuchung durchaus bestätigt gefunden wurde, in dieser Beziehung wesentliche Unterschiede untereinander und von Bacterium lactis acidi, welches der Eine von uns früher beschrieben hat, nicht erkennen ließen.

Bacterium casei I
aus dem Emmenthalerkäse.

Unbewegliches Stäbchen mit abgerundeten Enden, etwa vom Formtypus des Bacterium lactis aërogenes, vielleicht etwas zarter. Ebenso wie bei diesem wechselt die Länge der Einzelstäbchen außerordentlich von ganz kurzen, ovalen Formen bis zu langen Fäden; am häufigsten aber findet man Stäbchenzellen von mittlerer Länge. Vom Bacterium aërogenes unterscheidet sich diese Form jedoch in sehr charakteristischer Weise dadurch, daß sie gern in kettenförmigen Verbänden auftritt, während jenes meist isolierte Einzelzellen bildet. Besonders sind die Bouillon- und Agarkulturen durch das ganz vorwiegende Auftreten langer Ketten, die oft aus sehr kurzen Stäbchenzellen bestehen, charakterisiert.

In Kulturen auf Molkegelatine dagegen wie auf Fleischwassergelatine findet man vorwiegend isolierte Einzelstäbchen von wechselnder Länge; oft erscheinen sie hier auch zu zweien verbunden, gelegentlich mehrfach, längere Ketten aber werden nur selten beobachtet.

Da die Gelatinestich- und Strichkulturen sich in dieser Beziehung gleichartig verhalten und sich regelmäßig in der bezeichneten Weise von den Agarkulturen, mögen diese als Stich- oder Strichkulturen angelegt sein, unterscheiden, so darf man wohl nicht annehmen, daß ein mehr oder minder reichlicher Zutritt von Luft zu den Kulturen von Einfluß darauf ist, ob die Bacillen kettenförmig oder isoliert auftreten; wie denn auch in Bouillon, sei es, daß man dieselbe in hoher Schicht im Röhrchen oder in ganz flacher Schicht in Petri-Schalen als Kultursubstrat verwendet, immer vorwiegend längere Ketten zur Ausbildung gelangen. Vielmehr hat es den Anschein, als wenn kettenförmige Verbände besonders leicht in flüssigen Medien entstehen. Hiermit steht die Beobachtung, daß Agarkulturen sich ganz ähnlich wie die Bouillonkulturen verhalten, nicht im Widerspruch, da bei schräg erstarrtem Agar die Oberfläche immer etwas feucht bleibt und auch bei Agarstichkulturen sich im Stichkanal immer etwas Flüssigkeit ansammelt.

Für die Richtigkeit jener Annahme spricht besonders der Umstand, daß, während auf fester, trockener Gelatine, wie erwähnt, immer sehr zahlreiche isolierte Einzelzellen auftreten, in flüssiger Gelatine, die man bei 30° im Thermostaten hält, ganz ebenso wie in Bouillon und Agar fast ausschließlich lange Ketten gebildet werden.

Daß der Temperatur hierbei ein Einfluß nicht zuzuschreiben ist, geht daraus hervor, daß im Zimmer gezüchtete Agar- und Bouillonkulturen sich ganz ebenso verhalten wie solche, die bei Bruttemperatur gehalten wurden.

Es sei noch bemerkt, daß in Milch zwar auch häufig längere Ketten in großer Menge auftreten, daß aber bisweilen auch vorwiegend

isolierte, meist auffallend lange Stäbchenzellen in Milchkulturen beobachtet werden.

Sterile Milch, in Kulturröhrchen, mit diesen Bacillen infiziert, kommt zur Gerinnung:

bei	28° C	in	4—5 Tagen
"	30°	" "	4 "
"	33°	" "	2—3 "
"	34°	" "	3—4 "
"	37°	" "	4 "

Bei 40° trat in einigen Fällen nach 3, 4 oder 5 Tagen, in anderen Fällen erst nach 6, 7 und 9 Tagen Gerinnung der infizierten Milch ein; bei 42° in einem Versuche nach 5—6, in anderen erst nach 7—9 Tagen. Bei 45° gerann die infizierte Milch nicht mehr.

Da ferner Traubenzuckerbouillon, die mit den Bacillen geimpft und bei 45° gehalten wurde, dauernd klar blieb, muß man annehmen, daß diese Organismen bei dem genannten Wärmegrade überhaupt nicht mehr zu wachsen vermögen. Bei 42° fand in der Traubenzuckerbouillon noch eine geringfügige Vermehrung der eingesäten Bacillen statt.

Das Temperaturoptimum liegt hiernach bei 33°, das Maximum bei ca. 42° C.

An Stoffwechselprodukten[1]) bildet unser Bacillus beim Wachstum in Milch außer zweifelhaften[2]) Spuren Jodoformreaktion gebender flüchtiger neutraler Stoffe und flüchtiger Säure sehr beträchtliche Mengen rechtsdrehender Milchsäure[3]).

---

1) Zur Untersuchung der Stoffwechselprodukte wurde, wie folgt, verfahren: ca. 1 l steriler Magermilch wurde mit Reinkultur des Bacillus infiziert und bis zu eintretender Koagulation der Milch bei 30° C gehalten. Alsdann wurde die saure, vom geronnenen Caseïn abfiltrierte Molke mit $CaCO_3$ unter gelindem Erwärmen neutralisiert und vom überschüssigen $CaCO_3$ abfiltriert. Von dem neutralen Filtrat wurden ca. 50—100 ccm abdestilliert und das Destillat der Jodoformreaktion unterworfen. Der Destillationsrückstand wurde bis zur Syrupkonsistenz eingedampft und die darin enthaltenen organischen Säuren mit H_2SO_4 freigemacht und mit Aether ausgezogen. Aus dem erhaltenen Gemisch von Aether und Säure destillierte man den Aether ab, verdünnte den sauren Rückstand mit H_2O und trennte durch Destillation die etwa vorhandenen flüchtigen Säuren von den fixen Säuren. Die die fixen Säuren enthaltende Lösung neutralisierte man mit reinem $ZnCO_3$, untersuchte die abfiltrierte Flüssigkeit auf ihr Verhalten im polarisierten Licht und bestimmte in dem sodann aus der Lösung in Krystallform abgeschiedenen und lufttrocken gemachten Zinksalze den Gehalt an Krystallwasser und ZnO behufs Identifizierung der vorhandenen Säure.

2) Als wir eine Portion reiner durch 7-stündiges Erhitzen im Dampftopf auf 100° C sterilisierter Milch nach dem oben beschriebenen Verfahren auf das Vorhandensein von Zersetzungsprodukten untersuchten, zeigte es sich, daß das in der bezeichneten Weise gewonnene neutrale Destillat deutliche Jodoformreaktion gab, und konnten wir ferner merkliche Mengen einer flüchtigen Säure in der Milch konstatieren, welche Silberlösung energisch reduzierte. Milchsäure wurde nicht gefunden. (Vergl. hierzu die Untersuchungen von Cazeneuve und Haddon, Compt. rend. T. CXX. 1895. p. 1272 und Bardach, Sitzungsber. d. math.-nat. Klasse d. K. Akad. d. Wiss. Bd. CVI. Abt. 2b. p. 218. Wien 1897.)

Hiernach sind alle Angaben in der Litteratur, wonach gewisse Organismen beim Wachstum in sterilisierter Milch Spuren flüchtiger, neutraler, die Jodoformreaktion gebender Stoffe und geringe Mengen flüchtiger Säure (insbesondere Ameisensäure) bilden sollen, mit Vorsicht aufzunehmen.

3) Aus der in der oben bezeichneten Weise gewonnenen Zinksalzlösung, welche die Ebene des polarisierenden Lichtes nach links drehte, abgeschiedene 0,4586 g luft-

Wir stellten ferner einige Versuche an, um zu ermitteln, wie sich unsere Bacillen in anderen Nährflüssigkeiten als in Milch und anderen Zuckerarten gegenüber verhalten. Hierbei war es uns freilich nicht möglich, die chemische Natur der Stoffwechselprodukte, welche diese Formen bei der Einwirkung auf die verschiedenen Zuckerarten produzieren, im einzelnen genau zu untersuchen; vielmehr mußten wir uns darauf beschränken, Kulturversuche unter Verwendung kleiner Portionen von Nährflüssigkeiten verschiedener Zusammensetzung auszuführen und die hierbei wahrnehmbaren charakteristischen Wachstums- oder Zersetzungserscheinungen genau zu beobachten und zu verfolgen. Wir durften daher nur hoffen, die Frage zu entscheiden, wiefern diese Organismen imstande sind, verschiedene Kohlehydrate oder auch andere organische Verbindungen überhaupt anzugreifen und ob die unter verschiedenen Verhältnissen etwa von ihnen bewirkten Zersetzungen im wesentlichen denselben oder einen anderen Charakter als die in Milch von ihnen hervorgerufenen Gärungsvorgänge zur Schau tragen [1]).

---

trockenen Salzes verloren beim Erhitzen auf 110° C 0,0624 g an Gewicht und hinterließen beim Glühen 0,1328 g ZnO als Rückstand.

Das Salz enthielt also 13,6 Proz. Krystallwasser und im wasserfreien Zustande 33,5 Proz. ZnO und war somit als das Zn-Salz der rechtsdrehenden Milchsäure anzusprechen.

1) Zur Ausführung dieser Versuche schien es unerläßlich, eine absolut zuckerfreie Nährlösung zu bereiten und diese mit Zusätzen der verschiedenen auf ihre Vergärbarkeit zu prüfenden Substanzen als Kultursubstrat in Anwendung zu bringen. Indem wir uns zunächst der bekannten, nach Nägeli's Vorschrift zusammengesetzten Nährsalzlösung mit Pepton als N-Quelle bedienten, machten wir alsbald die Erfahrung, daß einige Formen in dieser Flüssigkeit, selbst wenn eine höchst zusagende gärfähige Substanz wie Traubenzucker oder Milchzucker hinzugefügt wurde, sich nur kümmerlich vermehrten und daß keine einzige in diesem Substrat nur annähernd ebenso üppig gedieh, als es der Fall war, wenn sie in einer traubenzucker- oder milchzuckerhaltigen Fleischwasserbouillon gezüchtet wurden. Hiernach mußte es wünschenswert erscheinen, eine Fleischwasserbouillon dadurch in brauchbarem Zustand herzurichten, daß man die auf gewöhnliche Weise bereitete Flüssigkeit von dem Muskelzucker vollkommen befreite, welchen sie regelmäßig, aber in wechselnder Menge zu enthalten pflegt.

Um eben diesen Zweck zu erreichen, hat der Eine von uns schon vor längerer Zeit das nachstehende sehr einfache Verfahren empfohlen und mit bestem Erfolge in Anwendung gebracht (cf. Die landw. Versuchsstationen. Bd. XLIII. 1893. p. 387. Später hat Theobald Smith, wohl ohne diese Mitteilung zu kennen, ein analoges Verfahren zur Entzuckerung der Fleischbouillon in Vorschlag gebracht.)

Man infiziert die in gewöhnlicher Weise bereitete und sterilisierte Bouillon mit einer Reinkultur derjenigen zuckervergärenden Bakterienart, deren Eigenschaften man in der Folge näher zu studieren wünscht. Bewahrt man nun diese Kultur bei einer für das Wachstum der eingesäten Organismen günstigen Wärme im Thermostaten, so darf man erwarten, daß die etwa in geringen Mengen vorhandenen, für diese gärfähigen Substanzen der Zersetzung bald und sehr annähernd vollständig (siehe weiter unten) anheimfallen werden. Nach einiger Zeit filtriert man die getrübte Flüssigkeit durch dichte Filter bis zur völligen Klärung, neutralisiert und sterilisiert sie von neuem. Indessen ist es nicht notwendig (und in manchen Fällen, wie wir sehen werden, nicht einmal vorteilhaft), die Entzuckerung der Bouillon in jedem einzelnen Falle durch diejenige Bakterienart zu bewirken, für welche man dieselbe in der Folge als Kultursubstrat verwenden will und so für jede Species eine besondere Lösung herzustellen, was sehr umständlich sein würde, wenn man eine größere Zahl von Bakterienarten gleichzeitig zu prüfen unternimmt. Man kann vielmehr zur Entzuckerung einer größeren Bouillonportion eine einzelne Art verwenden, und zwar eignen sich hierfür die von uns zu beschreibenden Formen gut, indem sie sich nur solange in der gewöhnlichen Bouillon vermehren, als gärfähiger Zucker darin vorhanden ist. Da der Gehalt an Zucker in

Nährsalzlösung + 1 Proz. Pepton	Nach 35-tägigem Verweilen der Röhrchen im Thermostaten bei 30°		
	Makroskopischer Befund an den Kulturflüssigkeiten	Acidität bestimmt durch Titration mit $\frac{N}{4}$-Natronlauge in 7 ccm der Kulturflüssigkeit	der sterilen Nährlösung
Zuckerfrei	völlig klar	0,40	0,45
+ Glycerin	völlig klar	0,40	0,40
+ Rohrzucker	minimale Trübung	0,52	0,40
+ Mannit	geringer Bodensatz	0,75	0,42
+ Maltose	geringer Bodensatz	0,80	0,45
+ Milchzucker	mäßig starker Bodensatz	1,10	0,47
+ Traubenzucker	mäßig starker Bodensatz	1,40	0,40
Entzuckerte Bouillon	Nach 12-tägigem Verweilen der Röhrchen im Thermostaten bei 34°		
Zuckerfrei	klar	0,65	0,65
+ Glycerin	klar	0,63	0,60
+ Mannit	schwache Trübung, starker Bodensatz	1,65	0,65
+ Maltose	schwache Trübung, starker Bodensatz	1,90	0,75
+ Traubenzucker	sehr schwache Trübung, sehr starker Bodensatz	3,40	0,80
Entzuckerte Bouillon	Nach 14-tägigem Verweilen im Thermostaten bei 34°		
Zuckerfrei	klar	0,65	0,63
+ Arabinose	minimaler Bodensatz	0,80	0,80
+ Rohrzucker	minimaler Bodensatz	0,70	0,60
+ Traubenzucker	starker Bodensatz	3,40	0,65
Entzuckerte Bouillon	Nach 14-tägigem Verweilen der Röhrchen im Thermostaten bei 30°		
Zuckerfrei	völlig klar	0,30	0,38
+ Glycerin	völlig klar	0,30	0,40
+ Rohrzucker	minimale Trübung	0,35	0,38
+ Mannit	mäßig starker Bodensatz	1,45	0,38
+ Maltose	starker Bodensatz	1,90	0,40
+ Milchzucker	starker Bodensatz	1,95	0,40
+ Traubenzucker	sehr starker Bodensatz	2,70	

der Bouillon gering ist, findet auch immer nur eine geringe Vermehrung der eingesäten Organismen statt, und ist es nicht zu befürchten, daß der Nährboden durch die Vorkultur im ganzen zu sehr erschöpft und zum erneuten Gebrauch als Kultursubstrat untauglich werde, was vielleicht der Fall sein möchte, wenn man sich des Bacterium coli nach Smith's Vorschlag bediente, welches auch in zuckerfreier Nährlösung zu wachsen imstande ist.

Unter den von uns beobachteten Bakterienarten erschienen wiederum einzelne für den vorliegenden Zweck besonders gut insofern geeignet, als sie beim Wachstum in Nährlösungen keine diffuse Trübung, sondern lediglich ein Sediment erzeugen, wodurch denn die unerläßliche erneute Klärung der Bouillon außerordentlich erleichtert wird. Wir bedienten uns im gegenwärtigen Falle des Bacterium pabuli acidi II Weiß (cf. Weiß, E., Ueber drei in gesäuerten Rübenschnitzeln neu aufgefundene Milchsäurebakterien. [Inaug.-Dissert.] Göttingen 1898 und Journ. f. Landwirtsch. 1899. p. 141), welches in der Bouillon einen grobflockigen Bodensatz hervorbringt, von dem man

Als Nährlösung diente uns einmal die bekannte, nach Nägeli's Vorschrift zusammengesetzte Salzlösung mit Pepton als N-Quelle, ferner eine auf eigenartige Weise entzuckerte Bouillon (siehe unten), welche Lösungen wir teils als solche, teils mit je 2 Proz. verschiedener Zuckerarten oder anderer gärfähiger Kohlenstoffverbindungen versetzt, in Röhrchen gefüllt, sterilisiert als Kultursubstrate verwendeten.

Nachdem man die infizierten Kulturröhrchen längere Zeit bei 30—33 ° C im Brutschrank gehalten und wiederholt beobachtet hatte, wurden mikroskopische Prüfungen des Inhalts verschiedener Röhrchen vorgenommen und dann stets in je 7 ccm der Kulturflüssigkeiten mit $\frac{N}{4}$-Natronlauge unter Verwendung von Phenolphtaleïn als Indikator der Säuregehalt titriert. Ferner versäumte man nicht, in je 7 ccm ebenderselben in Röhrchen befindlichen und unter denselben Bedingungen wie die Kulturröhrchen im Thermostaten gehaltenen sterilen Nährflüssigkeiten die Höhe der Acidität durch Titration zu bestimmen (s. Tab. p. 250).

Bacterium casei II

aus Chesterkäse ist von dem vorhergehenden morphologisch nicht zu unterscheiden. Die dort gegebene ausführliche Beschreibung paßt bis in alle Einzelheiten auch auf diese Form.

Sterile Milch, in Kulturröhrchen mit diesen Bacillen infiziert, kommt zur Gerinnung:

bei	28 °	in ca.	3	Tagen
„	30 °	„ „	3	„
„	33 °	„ „	2	„
„	34 °	„ „	3	„
„	37 °	„ „	3	„

Bei 40 ° trat in einem Falle nach 2, in einem anderen nach 3 Tagen, in einem dritten erst nach 9 Tagen Gerinnung der infizierten Milch ein; bei 42 ° in einem Falle nach 2 Tagen, bei einem anderen Versuche nach 8 und bei einem dritten erst nach 16 Tagen. Bei 45 ° gerann die infizierte Milch nicht mehr.

Da ferner Traubenzuckerbouillon, die mit den Bacillen geimpft und bei 45 ° gehalten wurde, dauernd klar blieb, muß man annehmen, daß bei diesem Wärmegrade überhaupt kein Wachstum mehr stattfindet.

---

die überstehende klare Lösung bequem abgießen kann. Wir verfuhren nunmehr so, daß wir eine größere Portion steriler gewöhnlicher Bouillon mit einer Reinkultur des Bacterium pabuli acidi II Weiß infizierten und ca. 8 Tage lang bei ca. 30 ° C im Thermostaten hielten. Alsdann trennten wir die klare Flüssigkeit von dem Bodensatz, der sich darin gebildet hatte, neutralisierten und sterilisierten dieselbe.

Als wir nun Bacterium pabuli acidi von neuem einimpften und die Lösung bei 30 ° hielten, trat abermals ein Bodensatz, doch in äußerst geringer Menge auf; als wir aber die nach einigen Tagen von neuem geklärte und sterilisierte Flüssigkeit wiederum mit jenem Bakterium infizierten, blieb dieselbe im Thermostaten dauernd klar. Durch diese Behandlung war die Bouillon an Nährsalzen und N-Verbindungen keineswegs erschöpft worden. Denn wenn ein Teil derselben, mit etwas Traubenzucker versetzt, sterilisiert und mit Bacterium pabuli acidi infiziert wurde, trat alsbald eine üppige Vermehrung der eingesäten Organismen ein und es bildete sich ein sehr voluminöser Bodensatz.

Bei 42° trat in Traubenzuckerbouillon, in 2 Fällen, eine schwache Vermehrung der eingesäten Bakterien ein, in einem dritten Falle blieb die Bouillon aber klar.

Nährsalzlösung + 1 Proz. Pepton	Nach 35-tägigem Verweilen der Röhrchen im Thermostaten bei 30°		
	Makroskopischer Befund an den Kulturflüssigkeiten	Acidität bestimmt durch Titration mit $\frac{N}{4}$-Natronlauge in 7 ccm der Kulturflüssigkeit	der sterilen Nährlösung
Zuckerfrei	völlig klar	0,45	0,45
+ Glycerin	völlig klar	0,45	0,40
+ Rohrzucker	sehr geringe Trübung	0,75	0,40
+ Mannit	sehr geringe Trübung	0,50	0,42
+ Milchzucker	schwache Trübung	1,00	0,47
+ Maltose	schwache Trübung	0,95	0,45
+ Traubenzucker	mäßig starke Trübung	1,20	0,40
Entzuckerte Bouillon	**Nach 14-tägigem Verweilen der Röhrchen im Thermostaten bei 34°**		
Zuckerfrei	klar	0,65	0,63
+ Arabinose	klar	0,85	0,80
+ Rohrzucker	sehr geringer Bodensatz	1,05	0,60
Entzuckerte Bouillon	**Nach 12-tägigem Verweilen der Röhrchen im Thermostaten bei 34°**		
Zuckerfrei	klar	0,70	0,65
+ Glycerin	klar	0,60	0,60
+ Mannit	schwache Trübung, Bodensatz	1,65	0,65
+ Maltose	Flüssigkeit klar, starker Bodensatz	2,90	0,75
+ Traubenzucker	starker Bodensatz	3,30	0,80
Entzuckerte Bouillon	**Nach 14-tägigem Verweilen der Röhrchen im Thermostaten bei 30°**		
Zuckerfrei	völlig klar	0,30	0,38
+ Glycerin	völlig klar	0,30	0,40
+ Rohrzucker	sehr schwache Trübung	0,40	0,38
+ Mannit	Bodensatz	1,45	0,38
+ Maltose	sehr starker Bodensatz	2,70	0,40
+ Milchzucker	sehr starker Bodensatz	2,40	0,40
+ Traubenzucker	sehr starker Bodensatz	3,20	

Hiernach liegt das Temperaturmaximum für diese Form bei 42°. Doch verhielten sich verschiedene Kulturstämme und ein und derselbe Kulturstamm zu verschiedenen Zeiten, wenn sie diesem Wärmegrad ausgesetzt wurden, nicht immer ganz gleichartig. Offenbar hängt es von dem besonderen Zustande der in einer Kultur enthaltenen Organismen ab, ob sie bei dieser für die Species im allgemeinen schon recht ungünstigen Temperatur noch zu gedeihen vermögen oder nicht; wie denn auch die Energie der Gärwirkung, welche diese Organismen bei 42° in Milch entfalten, bei verschiedenen Kulturstämmen und bei einem und demselben Kulturstamme zu verschiedenen Zeiten bald

eine stärkere, bald eine schwächere sein kann. Ja schon die Temperatur von 40° scheint für diese Organismen nicht mehr recht günstig zu sein. Das Optimum liegt bei 33°.

Wie Bacterium casei I bildet diese Form beim Wachstum in Milch fast ausschließlich rechtsdrehende Milchsäure[1]) (s. Tab. p. 252).

(Fortsetzung folgt.)

Nachdruck verboten.

Ueber den Mehltau der Apfelbäume.

Von Prof. Dr. **P. Magnus**, Berlin.

Mit 2 Figuren.

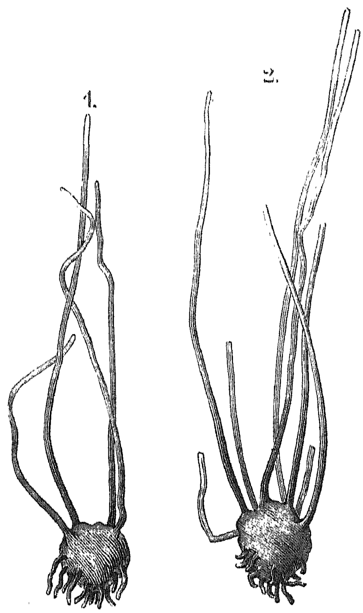
Zu den Mitteilungen, die C. Wehmer in diesem Jahrgange dieser Zeitschrift. p. 51—54 über den Mehltau der Apfelbäume gemacht hat, möchte ich mir einige Bemerkungen erlauben.

Was die Frage über die Species betrifft, so habe ich in den Berichten der Deutschen Botanischen Gesellschaft. Bd. XVI. 1898. p. 331—334 dargelegt, daß in Südtirol auf dem Apfelbaume die Sphaerotheca Mali Burr. auftritt, die Burrill für Nordamerika nachgewiesen hatte, und daß außerdem nach den bestimmten Angaben von Léveillé, von Tubeuf, Burrill, Underwood und Earle auch eine Podosphaera, vielleicht Pod. Oxyacanthae (DC.) De By., einen Mehltau auf dem Apfel bildet. Da Herr C. Wehmer Mitglied der Deutschen Botanischen Gesellschaft ist, und sogar selbst schon wiederholt Abhandlungen in deren Berichten veröffentlicht hat, so brauchte ihm meine Mitteilung nicht zu entgehen. Ich wies dort in Uebereinstimmung mit Burrill nach, daß ein Mehltau des Apfels von einer Sphaerotheca herrührt, deren Perithecien (s. Fig. 1 u. 2), in der Längsansicht betrachtet, birnförmig sind. Von der Wandung dieser Perithecien entspringen an ihrem unteren verschmälerten Teile kurze flockige, braune Haftfasern, während von ihrem oberen abgerundeten Teile starre, grade oder nur wenig gekrümmte, einfache, nur am Grunde gebräunte Anhängsel abgehen, die nach oben und vorn gerichtet und 2—5mal so lang, als die Höhe des Peritheciums sind. Von der nahe verwandten Sphaerotheca Castagneï Lév. ist sie dadurch scharf unterschieden, daß bei dieser die Anhängsel von den seitlichen Teilen der Wandung der Perithecien ausgehen, sich seitlich niederlegen und daher nicht so scharf von den flockigen kurzen Haftfasern unterschieden sind. In den Berichten der Deutschen Botani-

1) 0,9214 g des wie oben aus einer durch Reinkultur dieser Form vergorenen Milch gewonnenen lufttrockenen Zinksalzes verloren beim Erhitzen auf 110° 0,1229 g an Gewicht und hinterließen beim Glühen 0,2678 g ZnO. Hiernach enthielt das Salz 13,3 Proz. Krystallwasser und im wasserfreien Zustande 33,5 Proz. ZnO.

Andere 1,9833 g des Zinksalzes verloren bei 110° 0,2637 g an Gewicht und hinterließen beim Glühen 0,5694 g Rückstand, was einem Gehalt des lufttrockenen Salzes an Krystallwasser von 13,3 Proz. und einem Gehalt des wasserfreien Salzes an ZnO von 33,1 Proz. entspricht.

Die Lösung des Salzes war linksdrehend.



schen Gesellschaft 1898 ließ ich es noch dahingestellt, ob auf dem Apfellaube auch wirklich Sphaerotheca Castagneï Lév. auftrete. Seitdem habe ich öfter Perithecien auf dem Apfelbaume untersucht und stets nur Sphaerotheca Mali Burr. gefunden. Namentlich habe ich auch durch die freundliche Vermittelung des Herrn Prof. Dr. Sorauer dessen Präparate der Perithecien des Apfelmehltaues von Herrn Dr. R. Aderhold aus Proskau erhalten und sie als zu Sphaerotheca Mali Burr. gehörend erkannt. Ich glaube daher, jetzt behaupten zu können, daß Sphaerotheca Mali Burr. nicht auf dem Apfel auftritt.

Ferner sagt Wehmer l. c., daß der von ihm in der Provinz Hannover beobachtete Mehltau im Mai und Juni auftrat und im Juli wieder allmählich erlosch und der Pilz spurlos verschwunden erschien. Dies stimmt nicht mit dem von mir wiederholt beobachteten Auftreten des Mehltaus auf dem Apfel. Ich traf vielmehr solchen in sehr üppiger Entwickelung am 7. September 1894 in San Michele in Tirol, und von eben dorther sandte ihn mir Herr Prof. Mader am 22. September 1898 mit reichlicher Oidienbildung und Perithecien zu. Am 30. September 1898 erhielt ich ihn mit reichlicher Oidienbildung von Herrn Aderhold aus der Proskauer Baumschule und am 9. Juli 1899 erhielt ich ihn sehr reichlich entwickelt von Herrn Apotheker Capelle aus Springe in Hannover, ohne daß er Zeichen des Erlöschens erkennen ließ. Alle diese halte ich, trotzdem ich nur bei dem aus San Michele Perithecien gefunden habe, für Sphaerotheca Mali Burr. Wehmer hat vielleicht einen von einer anderen Art gebildeten Mehltau, der in früherer Jahreszeit auf dem Apfel erscheint, beobachtet, z. B. die oben erwähnte Podosphaera, obgleich auch diese auf dem nahe verwandten Crataegus oxycantha bis spät in den Herbst hinein auftritt. Auch ist es möglich und wahrscheinlich, daß sich der Mehltau verschieden in seinem Auftreten nach dem Verlaufe der Witterung an seinem Standorte verhält.

Auch hinsichtlich der Bekämpfungsmittel kann ich mich nach meinen geringen Erfahrungen nicht mit Wehmer einverstanden erklären. Ich muß dem Schwefeln zur Bekämpfung des Mehltaues einen größeren Wert zuerkennen. Der Mehltau der Rosen wird in den Gärtnereien sehr gut durch rationelles Schwefeln bekämpft. Im Jahre 1899 trat am Bodensee und am Rhein der echte Mehltau, das Oïdium Tuckeri, epidemisch auf und verursachte großen Schaden.

So außerordentlich wirksam die Bordelaiser Brühe gegen den falschen Mehltau des Weines, die Peronospora viticola Berk. ist, so unwirksam erwies sie sich gegen das Oïdium Tuckeri. Speziell am Bodensee ging trotz der wiederholten Bespritzung mit Kupferkalk ein großer Teil der Ernte zu Grunde. Man hatte zu spät das epidemische Auftreten des Oïdium erkannt und sich auf die Bespritzung mit der Bordelaiser Brühe verlassen. Nur diejenigen, die, obwohl spät, noch ihre Weinstöcke geschwefelt hatten, retteten einen Teil der Ernte.

Daß speziell auch beim Mehltau der Apfelbäume, der 1898 in erschreckender Menge am Rhein aufgetreten ist, das Bespritzen mit Kupferkalk sich völlig wirkungslos erwies, teilt auch R. Goethe in dem Berichte der Kgl. Lehranstalt für Obst-, Wein- und Gartenbau zu Geisenheim a. Rh. für das Etatsjahr 1898/99. p. 24 mit. Ich halte nach meinen persönlichen Erfahrungen das Schwefeln noch für eines der besten Bekämpfungsmittel des echten Mehltaues.

Referate.

Duclaux, E., Traité de microbiologie. T. III. Fermentation alcoolique. 760 p. Paris 1900.

Das obengenannte Werk umfaßt eine mehr oder minder ausführliche Darstellung der meisten sowohl rein chemischen als chemisch-physiologischen und biologischen Untersuchungen, welche über die Alkoholgärungspilze unternommen sind. Das Schlußkapitel behandelt die technische Anwendung der Alkoholgärung in der Industrie und darunter wird nicht nur die Gärung selbst und die Hefefabrikation besprochen, sondern der Verf. berührt auch die Malzbereitung. Die chemische Seite behandelt er überall in seinem Werke mit besonderer Vorliebe. Ein großes Kapitel handelt ausschließlich von rein chemischen analytischen Methoden zur Bestimmung der während der Alkoholgärung gebildeten wichtigsten Produkte.

Verf. begnügt sich nicht mit der Wiedergabe derjenigen Thatsachen, welche die Forschung gebracht hat, sondern er stellt die Resultate zusammen und teilt diejenigen Schlußfolgerungen mit, welche von seinem Gesichtspunkte aus zu ziehen sind. Selbst hat er ja im Laufe der Zeit an mehreren Stellen in der Gärungschemie wichtige Beiträge gegeben.

Was besonders in dem genannten Buche eine hervorragende Rolle spielt, ist die Lehre von den „Diastasen“. Verf. braucht das Wort „Diastase“ statt der sonst üblichen Bezeichnung „Enzym“. Er benutzt eine andere Einteilung dieser Körper als die gewöhnliche, die nach seiner Ansicht unklar ist. „Aber“, wie er sich ausdrückt, „das Ganze ist noch so dunkel, daß all unsere Mühe nur Umhertappen ist“ (p. 170). Er faßt Edw. Buchner's Zymase als ein Enzym auf und geht wider die Anschauung, die von mehreren Seiten (Abeles, Beijerinck u. A.) vertreten worden ist, nämlich daß die Wirksam-

keit des genannten Körpers auf einem Inhalte von lebendem Protoplasma beruhe. In Uebereinstimmung hiermit und infolge der von Emil Fischer, Thierfelder und Edw. Buchner auf dem Gebiete der Enzyme gemachten Entdeckungen gelangt Verf. auf p. 237 ferner zu der Schlußfolgerung, daß es überhaupt nicht die Hefezelle selbst ist, sondern ihre Enzyme, welche dem stereochemischen Bau der Zuckerarten gegenüber reagieren. Seine Auffassung ist diejenige, daß die Wissenschaft zu der Anschauung älterer Forscher zurückgekehrt ist.

Verf. ist ferner der Meinung, daß ein Gärungsorganismus leicht zur Bildung gewisser Enzyme, in deren Besitze er ursprünglich nicht war, gebracht werden kann. Es ist selbstverständlich nichts gegen eine solche Vermutung einzuwenden; das einzige die Wissenschaft jetzt Interessierende ist aber eine bestimmte Aufklärung, auf welche Weise dies geschehen kann. Er teilt mit (p. 248), daß er schon selbst im Jahre 1886 dies gezeigt hat, stützt sich aber jedoch namentlich auf einige von Dubourg jüngst mitgeteilte Untersuchungen. Letztere sind aber, wie Ref. dargethan hat (dies. Centralbl., diese No.), unrichtig. Daß für alle Gärungsorganismen eine gemeinsame, gleichartige Zymase existiere, findet Verf. nur wenig wahrscheinlich. Man würde sich in diesem Falle auch nicht viele Erscheinungen erklären können. Da die Zymase der Hefezelle nicht durch die Zellenwand diffundieren kann, muß die Umbildung des Zuckers in Alkohol im Inneren der Zelle selbst vor sich gehen. Die verschiedene Vergärung der verschiedenen Zuckerarten kann nach der Anschauung des Verf.'s (p. 256) nicht von dem verschiedenen Diffusionsvermögen der Zellenwände herrühren, und er gelangt zu dem Resultate, daß die Zymase nicht mit derselben Leichtigkeit die zwei den Invertzucker zusammensetzenden Zuckerarten und im allgemeinen die Molekülen der verschiedenen Hexosen dekomponiert und daß die Zymasen der Hefearten nicht auf dieselbe Weise den verschiedenen Hexosen gegenüber wirken.

Statt näher auf die große Litteratur einzugehen, die von dem Verhalten des Sauerstoffes zur Alkoholgärung handelt und welche in den 70er Jahren begann, um nach mehrjährigem Stillstande wieder in den letzteren Jahren aufzublühen, spricht er (p. 304) aus, daß die Untersuchungen über Gärkraft und Gärungsvermögen ganz verworren sind, und er zieht es vor, sich auf eine allgemeine Kritik zu beschränken. Seine Darstellung hier wird kaum diejenigen Forscher befriedigen, welche besonders in den letzteren Jahren die Frage einer experimentellen Behandlung unterworfen haben.

Nach seiner Anschauung sind es nur unwesentliche Aenderungen, welche die Entdeckung Edw. Buchner's in der Gärungstheorie von Pasteur hervorrufen. Er weist auf frühere Untersuchungen über diese Frage hin und hebt hervor (p. 357), daß die französischen Forscher Cl. Bernard und Berthelot außer Traube Gründe mitgeteilt haben, welche zu Gunsten der Existenz eines solchen Enzyms sprachen, und er teilt ferner mit, daß diese Auffassung Pasteur nicht fremd war; es gelang ihm aber nur nicht, das Enzym aufzufinden.

Von dem biologischen und morphologischen Teile des Werkes sollen in dem Folgenden einzelne den Standpunkt des Verf.'s charakterisierende Partieen herangezogen werden. In Kapitel 6, welches von den Reinzuchtmethoden handelt, verweilt er (p. 104) besonders bei demjenigen Verfahren, welches Pasteur zur Reinigung der Brauereihefe benutzte. Dasselbe bestand darin, daß die Hefe in einer 10-proz., mit ein wenig Weinsäure versetzten Saccharoselösung gezüchtet wurde, und Duclaux teilt mit, daß „Hansen gezeigt hat, daß dieses Mittel nicht immer glücklich ist". Dies ist nur die halbe Wahrheit. Hansen hat dargethan, daß das Verfahren ganz unbrauchbar ist, indem man bei Züchtung der Hefe nach Pasteur's Vorschrift die Krankheitshefen entwickelt und die Kulturhefe zurückdrängt, also ganz das entgegengesetzte Resultat von dem gewünschten bekommt.

Duclaux giebt hier den eigentümlichen Rat, nicht die Methode in denjenigen Fällen, wo sie nicht gelingt, zu brauchen und sie nur, „wenn sie gut ist", anzuwenden. Was er hier hätte sagen sollen, ist, daß das gedachte Pasteur'sche Verfahren überhaupt keine Methode zur Herstellung von Reinkulturen von Hefearten darbietet, daß es aber ein gutes Mittel zur Unterdrückung der in einer Hefevegetation sich befindenden Bakterien ist. Auch andere Punkte in seiner Darstellung der Reinzuchtmethoden sind nicht ganz richtig.

Auf p. 439—440 citiert Verf. einige Stellen aus Pasteur's „Études sur la bière". Diese Citate haben den Zweck, darzuthun, daß Pasteur nicht damit unbekannt war, daß die Hefearten Krankheiten im Biere hervorrufen können und daß dies bei der Wahl der Stellhefe zu berücksichtigen sei. Sonderbarerweise hat Verf. diejenigen Stellen in Pasteur's Buche übersehen, woraus gerade das Entgegengesetzte hervorgeht, und er teilt nicht mit, daß ähnliche Aussprüche, wie die obengenannten von Pasteur, auch bei Pasteur's Vorgängern, besonders den deutschen, zu finden sind. Man diskutierte nämlich zu jener Zeit beide Möglichkeiten auch unter den Brautechnikern, aber entscheidende Experimente wurden nicht angestellt, auch nicht von Pasteur. Falls man wirklich zu jener Zeit Einsicht in diese Frage gehabt hätte, würde ein so hervorragender Forscher wie Pasteur ja auch nicht die obengenannte Methode zur Reinigung der Brauereihefe empfohlen haben können, eine Methode, die gerade die Entwickelung der Krankheitshefen begünstigt. Pasteur sagt im Gegenteil selbst: „Hansen ist der erste, welcher eingesehen hat, daß die Brauereihefe nicht bloß hinsichtlich der Bakterien, der eigentlichen Krankheitsfermente, rein sein muß, sondern daß sie auch von den wilden Hefearten befreit sein muß." Es ist unbegreiflich, daß Verf. alles dies hat vergessen können, um so viel mehr, als zwei seiner eigenen Landsmänner, Velten und Fernbach, welche besonders auf diesem Gebiete gearbeitet haben, mehrmals hervorgehoben haben, daß die Aufgabe Pasteur's, nur die Bakterien von der Hefe zu entfernen war. Velten, Pasteur's alter Mitarbeiter, hat ja sogar bis jüngst für die Idee gekämpft, daß die Brauereihefe aus mehreren

Arten bestehe, also gegen das Hansen'sche Prinzip. Das Sonderbarste ist indessen, daß Duclaux jetzt vergessen hat, daß er in seinem Buche „Chimie biologique", 1883 (p. 301) die oft genannte Weinsäuremethode empfiehlt, indem er in Uebereinstimmung mit der Pasteur'schen Anschauung davon ausgeht, daß die Krankheitskeime im Biere nur Bakterien seien (l. c. p. 618). Damals waren die Hansen'schen Entdeckungen nur in ihrem Anfange und nur wenig beachtet. Alles dies ist indessen früher ausgesprochen worden (siehe z. B. J. Chr. Holm, „Hansen's Reinzuchtsystem in Frankreich", dies. Centralbl. Bd. V. 1899. No. 18/19. p. 641; hier finden sich auch Litteraturverweise), aber es scheint, als ob Wiederholungen auf gewissen Gebieten notwendig sind.

Um nicht dem Verf. Unrecht zu thun, muß doch sogleich auf seine Aussprüche p. 103, 441 u. f. hingewiesen werden, wo anerkannt wird, daß diese Fragen erst durch Hansen's Untersuchungen klargelegt und die große Reform durchgeführt wurde. Auf p. 557 und an anderen Stellen präzisiert er selbst den Unterschied zwischen Pasteur's und Hansen's Ideen, und endlich auf p. 442 sagt er wörtlich: „On peut dire, qu'en ce moment les méthodes de Hansen forment le fond des pratiques de la brasserie dans toutes les régions du globe." Die kleinen Ausfälle gegen Hansen, an welche Duclaux' Werk so reich ist, sind also nicht so schlimm gemeint, als sie scheinen.

Auf p. 618—619 erwähnt Verf. den Unterschied zwischen Oberhefe und Unterhefe. Wie bekannt, findet man in der Litteratur sowohl diejenige Anschauung, daß die eine in die andere umgebildet werden kann, als auch diejenige Meinung, daß dies nicht möglich ist, ausgesprochen. In Pasteur's Werk „Études sur la bière" sind beide Anschauungen vertreten, aber nach den Untersuchungen mit reingezüchteten Arten von Hansen und seinen Nachfolgern hat es sich gezeigt, daß eine solche Umbildung nicht ausführbar ist, und dies ist das letzte Resultat der Wissenschaft. Dieses Resultat schreibt Duclaux jetzt Pasteur zu, indem er sich begnügt, auf p. 189 bis 190 in Pasteur's Buch hinzuweisen. Es ist ja indessen nicht unmöglich, daß man in Zukunft durch andere Mittel als die bisher geprüften finden wird, daß eine konstante Umbildung von Oberhefe in Unterhefe oder umgekehrt sich ausführen ließe, und dem Vorhergehenden zufolge wird es kaum Erstaunen erregen, wenn dann auch die „Études sur la bière" als Ausgangspunkt dafür citiert werden. Diese Auffassung findet sich ja in der That auch auf p. 333 in einer Note unter dem Texte in diesem Werke. Pasteur giebt ja sogar hier den Brauern eine Anweisung zur Behandlung der Unterhefe, damit letztere nicht in Oberhefe umgebildet werde. Diese Anschauung ist diejenige, welche Pasteur am deutlichsten ausspricht und man hat ihn deshalb auch bisher so verstanden, als ob dies eigentlich seine Meinung war, so z. B. Ad. Mayer (Gärungschemie. 4. Aufl. 1895. p. 85). Hier ebenso wie in anderen wichtigen Punkten in der Biologie der Hefepilze äußert Pasteur widersprechende Auffassungen, ohne aber die Fragen zu entscheiden. Duclaux hebt hervor, daß Pasteur keine tiefergehende Untersuchung der eben erwähnten

Fragen unternommen hat. Aber warum citiert er dann nicht lieber diejenigen Verff., welche durch Hilfe exakter Methoden uns das jetzige Wissen gebracht haben? Und ist es ein wissenschaftliches Verfahren, die „Études sur la bière“ als Bibel zu benutzen?

Auf p. 113 spricht sich Verf. dagegen aus, daß die Systematiker besonders die Haupteinteilung der Hefepilze auf morphologische Charaktere aufbauen. So kennt er nicht den wichtigen Charakter an: Die Fähigkeit zur Endosporenbildung als einen Familiencharakter für die Saccharomyceten und er sucht namentlich seine Stellung dadurch zu begründen, daß der Fähigkeit zur Sporenbildung nicht immer die Fähigkeit zur Alkoholbildung folgt. Indem er diese zwei Verhältnisse derartig aneinander knüpft, stellt er sich außerhalb des Kreises der botanisch-systematischen Prinzipien.

Rücksichtlich der Artcharaktere ist es besonders das Verhalten zu den Zuckerarten, gegen welches er sich wendet. Er sieht diesen ebenso wie die anderen Artcharaktere für vollständig fließend an und deshalb ohne Wert. Er stützt sich hier auf die früher besprochenen Untersuchungen von Dubourg. Da aber Ref., wie oben erwähnt, dargethan hat, daß diese Dubourg'schen Resultate unrichtig sind, so ist diese Einwendung folglich hinfällig. Der Enzyminhalt der Saccharomyceten und das dadurch bedingte Verhalten zu den Zuckerarten ist im Gegenteil ein Artcharakter, welchem der am meisten konstante Wert zuzuschreiben ist. Unter den verschiedensten Züchtungsverhältnissen wird dieser Charakter bewahrt, was nicht nur Hansen, sondern mehrere andere Forscher (siehe die obengenannte Abhandlung des Ref.) dargethan haben.

Für Duclaux existieren keine Artcharaktere, und er ist dazu geneigt, überhaupt alles zu verwerfen, was man systematische Untersuchungen in der Mikrobiologie nennt, sowohl auf dem Gebiete der Hefepilze als auf dem der Bakterien. Vorschläge für etwas Neues und Besseres giebt er nicht, und falls seine Angriffe wirklich Bedeutung hätten, würde das Resultat sein, daß auch die Untersuchungen über die Systematik der Phanerogamen als umsonst angesehen werden mußten. Aber selbst in betreff der Phanerogamen fordert man ja auch nicht absolute Charaktere zur Unterscheidung der Arten. Die Unterscheidung zwischen den systematischen Einheiten sieht er als etwas ganz Hoffnungsloses an. Er sieht nicht, daß eben auf dem Gebiete der Mikroorganismen die Forschung jetzt auf Bahnen gelangt ist, wo der Ausgangspunkt und die Methoden sicher sind und der Fortschritt also gesichert ist.

Diese und andere ähnliche Mängel, welche man in Duclaux' Werke findet, haben ihre wesentliche Ursache darin, daß sein Reich, wie schon oben erwähnt, nicht die Botanik, sondern die Chemie ist. Dies hindert ihn jedoch nicht, eine recht ausführliche Uebersicht über die zahlreichen Untersuchungen zu geben, welche besonders die zwei letzten Jahrzehnte über die Morphologie und Biologie der Alkoholgärungspilze gebracht haben. Die größte Bedeutung des Buches liegt darin, daß es wenigstens in der Hauptsache den Standpunkt der französischen Schule am Anfange des neuen Jahrhunderts giebt. Klöcker (Kopenhagen).

Wolf, K., Denitrifikation und Gärung. (Hyg. Rundschau. Jahrg. IX. No. 23.)

Wolf hatte in einer früheren Arbeit festgestellt, daß verschiedene Hefearten und Mucor mucedo während der Alkoholgärung die zu einer Trauben- und Rohrzuckerlösung zugesetzten Nitrate zum völligen Verschwinden bringen, ferner daß durch dieselben Mikroorganismen in gewöhnlicher Fleischbrühe mit Nitratzusatz das Nitrat nur zu Nitrit reduziert wird.

Diese Thatsache, daß gewisse Hefe und Schimmelpilze bei gleichzeitiger Gärung denitrifizierend wirken, hat W. nun auch bei einer Reihe von Bakterien konstatieren können, und glaubt dadurch eine Bestätigung seiner Ansicht gefunden zu haben, daß die Zerstörung der salpetersauren Salze nur zum Teil durch die Bakterien selbst, zum anderen Teil durch ihre Stoffwechselprodukte erzeugt wird.

Er benutzte für seine Versuche 6 verschiedene Bakterienarten; die 4 ersten sind Vertreter der Gruppe der typhusähnlichen Bakterien, die beiden letzten der Gruppe der Heubacillen. Sie alle vergären Traubenzucker und vermögen in gewöhnlicher Fleischbrühe Nitrat zu Nitrit zu reduzieren. Zu der ersten Gruppe gehören:

Bact. coli, der Loeffler'sche Mäusetyphusbacillus und 2 aus dem Wasser gezüchtete Bakterien, von denen der eine (B. b) Milch koaguliert, der andere (B. a) nicht.

Zu der zweiten Gruppe gehört ein Bacillus, den er durch Einbringen von pulverisierter Ingwerwurzel in die Meißl'sche Rohrzuckerlösung gewann (Bac. Fitzianus), den anderen gewann man aus Mehl, das wegen schlechter Backfähigkeit beanstandet war.

Er stellte nun folgende Versuche an:

1 Proz. Traubenzuckerbouillon wurde mit wechselnden Mengen KNO_3 vermischt, sterilisiert und in sterile Gärungskölbchen gebracht. Diese wurden dann mit der betreffenden Bakterienart geimpft, 2 Tage bei 30° C gehalten; etwa vorhandene Gasbildung notiert und die Flüssigkeit auf Salpeter und salpetrige Säure untersucht. Das Resultat war folgendes:

Die Mengen des Nitrats, die zerstört werden, sind bei den einzelnen Bakterien verschieden. Die Coli-ähnlichen Bakterien vergären höchstens bis zu 0,1 Proz. KNO_3, von den beiden Heubacillen vergärte der erstere 0,16 Proz., der letztere 0,22 Proz. KNO_3. Dieser letzte vergärt also ungefähr ebensoviel, wie die echten Denitrifikationsbakterien. Schon Dieudonné hat nachgewiesen, daß das Bact. coli, in Peptonwasser gezüchtet, Nitrat zu Nitrit und weiter zu NH_3 reduziert. Doch waren die Mengen von Nitrat sehr viel geringer, als die durch Wolf festgestellten. Die Fähigkeit, Salpeter zu reduzieren, wird also durch den Zusatz von Zucker zum Nährboden wesentlich erhöht.

Jensen hat festgestellt, daß die denitrifizierenden Bakterien eine um so größere Menge von KNO_3 zerstören, je mehr — bis zu einer bestimmten Grenze — dem Nährboden Traubenzucker hinzugefügt wird.

Bei den von W. angewandten 6 Bakterien spielt nun aber die Konzentration der Zuckerlösung keine Rolle.

W. konstatierte, daß nur ganz bestimmte, für jeden einzelnen Bacillus genau festzustellende Nitratmengen anzuwenden sind, um um die Gärung vollkommen zu machen. Größere Nitratmengen wirken gärungshemmend. Dabei wird jedoch eine Entwickelungshemmung der Bakterien nicht beobachtet; auch die Milchsäureproduktion ist dabei eine ganz normale.

Der Nitratstickstoff wird also nur bei gleichzeitig bestehender Gärung vollständig zum Verschwinden gebracht. Dadurch ist der Beweis erbracht, daß nicht die Lebensthätigkeit der Bakterien sondern ihre Gärungsprodukte (H und CO_2) die Reduktion der salpetersauren Salze und ihre weitere Umwandlung zu kohlensauren Salzen bewirken.

W. kommt zu dem Schluß, daß bei jeder Gärung, durch welche Mikroorganismen sie auch hervorgerufen wird, das in der Zuckerlösung vorhandene Nitrat zerstört wird. Die Eigenschaft zu denitrifizieren, kommt einem größeren Kreis von Bakterien zu, diese können ihre Eigenschaft aber nur dann äußern, wenn bestimmte Substanzen in den Nährböden, die Bildung der denitrifizierenden Stoffwechselprodukte ermöglichen. Uhlenhuth (Greifswald).

v. Hellens, O., Studien über die Marktmilch von Helsingfors mit besonderer Hinsicht auf den Bakteriengehalt derselben. [Inaug.-Dissert.] 8°. 80 und V pp. Helsingfors 1899.

In den vom Verf. untersuchten Milchproben wechselte der Bakteriengehalt im Sommer zwischen 20000 und 34300000 pro Kubikcentimeter, mit einem durchschnittlichen Gehalt von 474500 Bakterien pro Kubikcentimeter, im Winter stellten sich die Ziffern auf 70000 bis 18630000 mit einem durchschnittlichen Gehalt von 2111000 Bakterien pro Kubikcentimeter.

Betreffs des Bakteriengehaltes wurde kein wesentlicher Unterschied unter den Milcharten verschiedenen Ursprungs verspürt; meistens freilich war die in größeren Milchgeschäften verkäufliche Milch als die beste, und die in Milchbuden feilgehaltene als die schlechteste zu bezeichnen.

Es scheint ein gewisser Zusammenhang zwischen dem Schmutzgehalt und dem Bakteriengehalt zu bestehen, ohne daß diese doch immer in einem direkten Verhältnis zu einander stehen. Einem geringeren Fettgehalt in der Helsingforser Marktmilch entsprach in der Regel ein hoher Bakteriengehalt.

Auch der Säuregehalt scheint mit dem Bakteriengehalt in einem gewissen Verhältnis zu stehen.

Die festgestellte große Keimzahl in der Milch in Helsingfors wird wohl mit der unzweckmäßigen Aufbewahrung sowohl am Produktionsorte, als während des Transportes nach dem Verkaufsorte in Verbindung stehen.

Was die Pathogenität betrifft, so enthielt etwa ein Drittel der untersuchten Milchproben virulente Tuberkelbacillen.

In 43 Proben von 57 konstatierte Verf. andere pathogene Bakterien, so daß ein großer Teil der Helsingforser Marktmilch gleichzeitig 2 oder mehrere pathogene Keime enthielt.

Verf. vermochte unter anderen nachweisen den Bacillus tuber-

culosis, Streptococcus pyogenes, Staphylococcus pyogenes aureus, albus, citreus, Bacterium coli commune.

Sicherlich kann das Vorkommen pathogener Keime in der Marktmilch in sehr vielen Fällen auf eine Krankheit bei irgend einem der milchproduzierenden Tiere zurückgeführt werden.

Roth (Halle a. S.).

Troili-Petersson, Gerda, Studien über saure Milch und Zähmilch. [Aus dem hygienischen Institut zu Stockholm.] (Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. Bd. XXXII. Heft 3. p. 361—374.)

Die Frage, ob die Milchsäureerreger in den verschiedenen Gegenden der gleichen Art angehören, hat bereits eine ganze Reihe dahin zielender Untersuchungen veranlaßt, einen weiteren Beitrag zur Klärung dieser Frage liefert T.-P. Als normaler Säureerreger ist danach auch in Schweden das von Leichmann zuerst beschriebene Kurzstäbchen zu betrachten, das jedoch nach den Regeln der Nomenklatur Bact. Güntheri Lehm. et Neum. und nicht Bact. lactis acidi heißen muß. Die in Reinkulturen gebildete Säure war dabei ausschließlich Rechtsmilchsäure, eine Thatsache, die übrigens bereits durch die vom Verf. leider übersehenen neueren Arbeiten Leichmann's festgestellt ist, der nachwies, daß das in Rohsäuerung meist vorkommende Gemisch von Links- und Rechtsmilchsäure auf verschiedene Organismen zurückzuführen ist. Um zu untersuchen, ob dem Luftsauerstoff irgendwelche Einwirkung auf die Menge der gebildeten Säure zukommt, wurden Parallelversuche bei Luftzutritt und Luftabschluß gemacht, die zeigten, daß die Intensität der von der betreffenden Bakterienart erzeugten Gärung von der Gegenwart des Sauerstoffes nicht beeinflußt wird. Die Zeitdauer der Versuche, während welcher die Milchsäurebakterien ihre Entwickelungsfähigkeit behalten, dürfte wohl etwas kurz gewählt sein, denn wenn gefunden wurde, daß Kulturen in Glycerinzuckergelatine noch nach $1^1/_2$ Monaten, bei Gegenwart von Oïdium lactis noch nach $2^1/_2$ Monaten und an Seidenfäden eingetrocknet, noch nach $3^1/_2$ Monaten Milch zur Koagulation brachten, so ist dies nach Erfahrungen des Ref. noch bei weitem nicht die Grenze der Haltbarkeit.

Der zweite Teil der Arbeit befaßt sich mit der schwedischen Zähmilch. Als Ursache dieser Milch, die in Schweden, Norwegen und Finnland teils zum Genusse bereitet wird, teils spontan als krankhafte Erscheinung in Molkereien auftritt, giebt Verf. einen dem Bact. Güntheri morphologisch gleichen Organismus an, der sich von diesem hauptsächlich durch eine eigentümliche Art von Gärung unterscheidet. Als Name wird ihm Bacterium lactis longi gegeben.

Versuche, die lange Milch mit Blättern von Drosera und Pingnicula herzustellen, gelangen nur teilweise.

Appel (Charlottenburg).

Schönfeld, F., Studien über eine Biersarcina. [Mitteilung aus der Versuchs- und Lehranstalt für Brauerei in Berlin.] (Wochenschrift f. Brauerei. Jahrg. XVI. No. 50. p. 665—670.)

Bereits in No. 21 des 1898er Jahrganges wurden Untersuchungen über eine Biersarcina und die für ihre Vermehrung und Virulenz in Betracht kommenden Kultivierungsmethoden und klimatischen Verhältnisse veröffentlicht; durch die vorliegende Arbeit wird die Kenntnis dieses Organismus wesentlich erweitert.

Es war damals die merkwürdige Beobachtung gemacht worden, daß, wenn 1 l Brauereiwürze mit variierenden Mengen Hopfen eine Stunde lang gekocht und mit Hefe zur Vergärung angestellt wurde, das Bier einige Monate gelagert, pasteurisiert und dann mit durch Sarcina-Reinkulturen krank gemachtem Bier geimpft wurde, diese Biere nicht trübe wurden, sondern nur einen geringen Bodensatz von Bakterien aufwiesen. Da diese Erscheinung bei den verschieden großen Hopfengaben verschieden war, diese Gaben aber zum Teil unter denen der normalen Biere zurückstanden, so war anzunehmen, daß das Hopfenharz, das bei der Versuchsanstellung nur in geringem Maße ausgeschieden war, einen Einfluß auf die Virulenz und Vermehrung haben muß.

In der That zeigten exakte Versuche, daß Lupulinzusatz zum Bier die Virulenz der Sarcina bedeutend hemmt, die absolute Vermehrung dagegen weniger beeinflußt. Da von vornherein wahrscheinlich war, daß diese Beeinflussung auf das Hopfenweichharz zurückzuführen war, wurden auch hiermit Versuche angestellt, welche bewiesen, daß das Weichharz des Hopfens ein absolutes Gift für die Sarcina ist und ihre Vermehrung wie Virulenz stark beeinflußt.

Bier, welches sehr stark von der Sarcina-Krankheit befallen, aber wieder klar geworden ist, kann unter Umständen immun gegen fernere Sarcina-Erkrankung sein. Auch Kohlensäuredruck ist der Entwickelung der Sarcina nicht günstig, wenn auch bei dem angewandten Höchstdruck von 0,8 Atmosphären nur eine Abnahme, nicht aber ein völliges Hintanhalten der Schleierbildung eintrat.

In der Praxis kann man häufig die Beobachtung machen, daß Biere aus schlecht verzuckerten Würzen viel leichter Sarcina-Infektionen ausgesetzt sind, als solche, deren Würze gut verzuckert war. Auch experimentell gelang dem Verf. der Nachweis dieser Thatsache und es läßt sich daraufhin ganz allgemein der Satz aufstellen: daß Sarcinen in stärkehaltigen Würzen resp. Bieren besonders günstige Wachstumsbedingungen finden. Auch der Pepton- und Amidgehalt des Substrates ist von verschiedenem Einflusse auf die Entwickelung der Sarcinen, so zwar, daß peptonreiche Flüssigkeiten für ihre Vermehrung günstiger sind, als amidreiche. Bezüglich der Virulenz läßt sich dagegen ein Unterschied nicht nachweisen.

Leider ist die systematische Stellung des Organismus nicht eingehend behandelt, so daß ein Identifizieren mit einer der bekannten Arten nicht möglich ist. Appel (Charlottenburg).

Jaczewski, A., Ueber den Black-Rot. (Westnik Winodelia. 1899. No. 3. p. 139—145.)

Verf. schließt aus seinen Beobachtungen, daß Phoma reniformis in den Entwickelungskreis des Black-Rot gehört. Der Entwickelungskreis des Black-Rot stellt sich nach ihm folgendermaßen dar:

Perithecien (Guignardia Bidwellii)
Phyllosticta viticula (Pykniden auf den Blättern)

Phoma reniformis Phoma uvicola

Perithecien.

Wie bei Phoma reniformis, so kommen auch bei Phoma uvicola Mikrostylosporen (Spermatien) vor.

Verf, kommt endlich noch zu folgenden Ergebnissen:

1) Die kaukasischen Formen des Black-Rot unterscheiden sich im allgemeinen nicht von den entsprechenden Formen in Frankreich.

2) Die Pyknidenform Phoma reniformis findet sich ebenfalls in Frankreich, jedoch seltener als Phoma uvicola.

3) Der Parasitismus von Phoma reniformis ist sowohl für den Kaukasus wie für Frankreich vollkommen nachgewiesen.

4) Die Bordeauxbrühe, richtig angewandt, ist das beste Gegenmittel.

Moritz (Berlin).

Verneuil, A., La reconstitution en Charentos. II. Terrains non calcaires[1]). (Rev. de viticult. T. XII. 1899. No. 313. p. 689 ff.)

Verf. spricht die, allerdings nur auf die Beobachtung eines Jahres gegründete Ansicht aus, daß die Riparia nicht mehr, wie man früher geglaubt hat, als die, den größten Ertrag liefernde Veredlungsunterlags-Rebe zu betrachten sei, und zwar nicht einmal für die tiefgründigen und lockeren Böden, noch weniger für die trockenen und mageren oder etwas kalkigen Böden. Die Riparia sei daher aufzugeben und in geeigneten Böden durch die guten Hybriden Riparia rupestris, in flachgründigen oder kalkigen Böden durch Rupestris, insbesondere durch Rupestris du Lot zu ersetzen.

Den durch Kreuzung von französischen und amerikanischen Reben gewonnenen Hybriden zieht Verf. die amerikanischen Reben reinen Ursprungs im allgemeinen vor. Indessen könne man auch die ersteren mit Erfolg anbauen in gewissen tiefgründigen, kühlen und selbst feuchten Böden, in welchen ihre Widerstandsfähigkeit gegen die Reblaus durch die Natur des Bodens begünstigt wird.

Moritz (Berlin).

v. Speschnew, N. N., Ueber Parasitismus von Phoma reniformis V. et R. und seine Rolle in der Black-Rot-Krankheit der Weintraube. (Zeitschr. f. Pflanzenkrankh. Bd. IX. 1899. Heft 5. p. 257 ff.)

Verf. hat 1796 zuerst auf zwei neu auftretende Krankheiten der Weintrauben in Kachetien (Kaukasus) aufmerksam gemacht, welche sich als die Schwarzfäule (Black-Rot) und Weißfäule (White-Rot) erwiesen haben. Versuche, welche vom Verf. unter Mitwirkung des

1) Vgl. Centralbl. f. Bakt. etc. 1899. No. 23. p. 822.

Herrn Jaczewsky ausgeführt wurden, haben ergeben, daß die Black-Rot-Krankheit der Weinrebe nicht allein durch Phoma uvicola B. et C., sondern ebenso auch durch Phoma reniformis V. et R. verursacht wird, und daß Phoma reniformis nur als eine besondere Entwickelungsform von Phoma uvicola anzusehen ist. Auch Phoma flaccida ist nach dem Verf. in diese Reihe einzuordnen. Phoma reniformis und Ph. flaccida sind rein parasitische, nicht saprophytische Formen. Moritz (Berlin).

Jacky, E., Untersuchungen über einige schweizerische Rostpilze. (Ber. d. schweiz. botan. Gesellsch. 1899. Heft 9. p. 49.)

Verf. berichtet über folgende Versuche mit heteröcischen Uredineen:

1) Caeoma Saxifragae (Strauß) Wint. gehört zu Melampsora alpina Juel auf Salix herbacea. Aussaaten mit dem Caeoma gaben nur Infektionen auf Salix herbacea, nicht aber auf anderen Salix-Arten. Melampsora (Uredo) von S. herbacea infizierte nur diese Pflanze, nicht S. serpyllifolia mit Uredo.

2) Das Aecidium auf Aconitum Lycoctonum gehört zu Uromyces Aconiti Lycoctoni, nicht zu Puccinia Lycoctoni. Die Infektionen mit Teleutosporen gaben nur auf Aconitum Lycoctonum Aecidienlager und umgekehrt die Aussaaten der Aecidiosporen den Uromyces ohne Uredo.

3) Das Aecidium auf Aquilegia alpina ist identisch mit dem auf Aquilegia vulgaris und gehört wie dieses zu Puccinia Agrostidis auf Agrostis alba. Bemerkenswert ist bei den Versuchen, daß Infektionen bei 2 Varietäten der Agrostis nicht gelangen.

4) Caeoma Mercurialis gehört, wie bereits früher bewiesen, zu Melampsora aecidioides auf Populus tremula. Gleichzeitig konnte auch, außer Populus tremula, alba und canescens, P. cordata, nigra und monilifera infiziert werden.

5) Melampsora populina auf Populus nigra gehört zu einem Caeoma auf Larix europaea.

6) Melampsora Larici-Caprearum auf Salix Caprea gehört zu einem Caeoma auf Larix europaea.

7) Melampsora Helioscopiae auf Euphorbia Cyparissias bildet bei Aussaaten direkt Uredo auf der Nährpflanze.

8) Puccinia dioicae lebt außer in Carex dioica und Davalliana auch in Carex alba.

9) Puccinia auf Imperatoria Ostruthium ist nicht identisch mit der auf anderen Umbelliferen gefundenen P. Aegopodii, sondern stellt höchst wahrscheinlich eine Art der Untergattung Leptopuccinia dar. Lindau (Berlin).

Capus, J., Observations sur les dégats dus au „Drosophila funebris. (Rev. de viticult. T. XII. 1899. No. 313. p. 694 ff.)

In einigen Weinbergen der Gironde wurden die Larven der Essigfliege und verwandter Dipteren als Schädiger weißer Weintrauben beobachtet. Die Larven leben im Inneren der Weinbeeren, welche infolgedessen eine ziegelrote Färbung annehmen und schrumpfen. Das Insekt tritt im allgemeinen im Oktober und November auf. Man hat es in größter Menge in den Jahren mit früher Reifezeit, wie 1893 und 1899, beobachtet. Die roten Traubensorten unterliegen, weil sie frühzeitiger geerntet werden, den Angriffen dieser Insekten nicht.

Moritz (Berlin).

Brin, F., L'Eudemis botrana et la Cochylis dans les grappes en 1899. (Rev. d. viticult. T. XII. 1899. No. 313. p. 708.)

Eudemis botrana ist früher in Frankreich nur vereinzelt beobachtet worden. 1893 meldete Henri Kehrig das Auftreten dieses Schädlings an Spalierreben in den Gärten von Bordeaux. Seitdem hat die Ausbreitung des Insektes derart zugenommen, daß 1899 eine schwere Schädigung gewisser Weinberge im Gebiete von Graves nachgewiesen werden konnte. Zur Bekämpfung des Uebels wird das Entrinden der Reben zu geeigneter Jahreszeit und das Verbrennen der Rinde empfohlen. Als Ergänzung dieses Verfahrens könne eine Besprengung der Reben mit einer Flüssigkeit erfolgen, welche auf 100 l Wasser 7 l Schwefelsäure enthält. Moritz (Berlin).

Frank, A. B. und **Krüger, F.,** Schildlausbuch. Beschreibung und Bekämpfung der für den deutschen Obst- und Weinbau wichtigsten Schildläuse. Mit 59 Textabbildungen und 2 Farbendrucktafeln. Berlin (Paul Parey) 1900.

Nachdem infolge der beunruhigenden Nachrichten aus Nordamerika über das verderbliche Auftreten der San José-Schildlaus daselbst die Aufmerksamkeit auf die Gefahr einer Einschleppung dieses schädlichen Insektes in das Deutsche Reich gelenkt worden war, machte sich das Bedürfnis nicht nur nach einer genaueren Kenntnis des genannten Schädlings, sondern auch anderer und insbesondere unserer einheimischen, dem Obstbau schädlichen Schildläuse geltend. Es zeigte sich bald, daß in dieser Beziehung noch große Lücken vorhanden waren.

Die Verff. sind bestrebt gewesen, in der vorliegenden Schrift diese Lücken, soweit es zur Zeit möglich war, auszufüllen. Die Schrift zerfällt in einen allgemeinen und einen speziellen Teil und in eine Anleitung zur Bestimmung der für den deutschen Obst- und Weinbau wichigsten Schildläuse. 2 Tafeln in Farbendruck und zahlreiche Abbildungen im Text dienen zur Veranschaulichung des Gesagten. Insbesondere ist die für die Bestimmung der einzelnen Arten der Diaspinen so bedeutsame Gestaltung des letzten Hinterleibssegmentes der erwachsenen Weibchen vielfach zur Darstellung gebracht.

Der allgemeine Teil behandelt zunächst die systematische Stellung der Schildläuse und die hauptsächlichsten Merkmale, welche sie

von den Blattläusen (Aphiden) unterscheiden, sowie ihre Einteilung in einige Unterabteilungen. Hieran schließt sich eine Beschreibung der Entwickelung und Fortpflanzung sowie der Einfluß, welchen die Schildläuse auf die von ihnen befallenen Pflanzen ausüben.

Bei der Besprechung der Art und Weise, wie die Schildläuse unter natürlichen Verhältnissen sich verbreiten, wird darauf hingewiesen, daß auch dem Winde dabei eine Bedeutung zukommen dürfte.

Von den natürlichen Feinden der Obstschildläuse werden in erster Linie Schlupfwespen, ferner Wanzen und Käfer angeführt. In betreff der auf toten Schildläusen gefundenen Pilze wird die Frage offen gelassen, ob es sich dabei um echte Parasiten oder um einen erst nach dem Tode der Schildläuse eintretenden Befall handelt.

Es werden sodann die Mittel zur Bekämpfung der Schildläuse besprochen. Letztere kann eine indirekte oder direkte sein. Die indirekte Bekämpfung besteht darin, daß man die Pflanzen in jeder Beziehung in einen möglichst guten Kulturzustand zu versetzen sucht, indem man für eine rationelle Ernährung u. s. w. sorgt.

Die direkte Bekämpfung kann auf verschiedene Weise geschehen und zwar 1) durch Verjüngung des von den Schildläusen befallenen Baumes, 2) durch mechanisches Zerdrücken der Schildläuse am Holze, 3) durch chemische Mittel, welche entweder in flüssigem oder gasförmigem Zustande angewandt werden können. Von den ersteren werden Kalkmilch, Weingeist, Schwefelcalcium, Arsenikpräparate, Lysol, Seifen, Petroleum und Petroleumemulsionen, von den letzteren wird die Blausäure eingehend in betreff ihrer Herstellung und Anwendung besprochen.

Es folgt nunmehr der spezielle Teil des Buches, welcher mit der Besprechung der zur Gruppe der Diaspinae gehörenden, für den deutschen Obstzüchter und Gärtner wichtigsten Schildläuse beginnt. In einer kurzen Tabelle werden zunächst die hauptsächlichsten unterscheidenden Merkmale für die Gattungen Aspidiotus, Diaspis, Parlatoria, Mytilaspis und Chionaspis zusammengestellt.

Von der Gattung Aspidiotus werden eingehend besprochen: Aspidiotus ostreaeformis Curtis, von den Verff. als europäische Pseudo-San José-Schildlaus bezeichnet, ferner Aspidiotus perniciosus Comstok (echte San José-Schildlaus), Aspidiotus ancylus Putnam, Aspidiotus forbesi Johns. und Aspidiotus rapax Comst. Von der Gattung Diaspis hat Diaspis fallax (rote, austernförmige Schildlaus) als die für den deutschen Obstzüchter wichtigste Art Berücksichtigung gefunden. Die Gattung Mytilaspis ist durch Mytilaspis pomorum Bouché (kommaförmige Schildlaus), Mytilaspis vitis, M. conchiformis Gmelin, M. juglandis Asa Fitch und M. citricola Packard, die Gattung Chionaspis durch Chionaspis furfurus Fitch und die Gattung Parlatoria durch Parlatoria zizyphi (Lucas) Signor. und Parlatoria pergandii Comst. vertreten.

Es folgt nun eine Besprechung der zu den Lecaninen gehören-

den Schildläuse. Von der Gattung Lecanium werden behandelt: Lecanium persicae Fabr., L. rotundum Réaum., L. rugosum Sign., L. juglandis Bouché, L. pyri Schrank, L. cerasi Goethe und L. variegatum Goethe. Von der zu derselben Unterfamilie gehörenden Gattung Pulvinaria werden Pulvinaria vitis, P. ribesiae Sign., P. pyri A. Fitch (?) und P. innumerabilis besprochen.

Den Schluß des Buches bildet eine kurze Anleitung zur Bestimmung der für den deutschen Obst- und Weinbau wichtigsten Schildläuse. Zu diesem Zwecke werden 3 Tabellen gegeben. Die erste Tabelle enthält die Kennzeichen der zu den Diaspinen gehörenden Gattungen. Die zweite Tabelle soll nur zur Entscheidung der Frage dienen, ob das näher zu bestimmende Tier die San José-Schildlaus ist oder nicht und die dritte Tabelle dient zur Bestimmung der 5 Aspidiotus-Arten: A. ostreaeformis, A. perniciosus, A. ancylus, A. forbesi und A. rapax. Moritz (Berlin).

Thiele, R., Neues aus dem Leben der Blutlaus. (Zeitschr. f. Pflanzenkrankh. Bd. IX. 1899. Heft 5. p. 260 f.)

Verf. beobachtete, daß im Juni, je nach der Temperatur auch Anfang Juli, auftretende geflügelte Blutlausweibchen nicht imstande waren, männliche und weibliche Individuen zu erzeugen, sondern daß die von ihnen geborenen jungen Tiere erblich befruchtete Weibchen mit Saugrüssel darstellten, welche neue Kolonieen hervorbringen konnten. Die Zeit der Geburt dieser Tiere dauert bei den zuerst Geborenen etwa eine halbe Stunde. Je mehr Junge erscheinen, um so mehr verlangsamt sich der Geburtsakt. So brauchte in einem vom Verf. beobachteten Falle das 16. Tier von seinem Erscheinen bis zum vollendeten Austritt aus dem Körper des Muttertieres 75 Minuten.

Endlich erwähnt Verf., daß er an Weißdornzweigen ansehnliche, durch die Blutlaus des Apfelbaumes bewirkte Gallenbildungen beobachtet habe. Moritz (Berlin).

Coquillett, D. W., Description of Agromyza phaseoli, a new species of leaf-mining fly. (Proceedings Linnean Soc. of New South Wales. Vol. XXIV. 1899. p. 128—129.)

Die Fliege richtete im vorigen Jahre große Verwüstungen an den Schminkbohnen (French beans) im Gosford-Distrikte von Neusüdwales an, dergestalt, daß in manchen Gärten alle Pflanzen noch vor dem Tragen eingingen. Die Untersuchung eines 5 Acres umfassenden Feldes zeigte, daß jeder Bohnenstengel mehr oder weniger befallen war. Die Fliege legt ihre Eier außen an den Hauptsproß dicht über der Erde. Nach dem Ausschlüpfen bohren sich die Maden unter die Epidermis ein und schreiten teils nach den Blättern, teils unterirdisch nach den Wurzeln zu fort. Da sich bis 30 und 40 Larven oder Puppen in einer Pflanze vorfinden ließen, war es kein Wunder, daß diese abstarben, was sich durch Risse und rostrote Verfärbung der

Oberhaut vorbereitete. Der Schädling war früher nie bemerkt worden, obwohl auf manchen der befallenen Aecker schon in den vergangenen 5 Jahren Bohnen angebaut worden waren. Eine Diagnose der Art ist beigegeben. Arnold Jacobi (Berlin).

Entwickelungshemmung und Vernichtung der Bakterien etc.

Behrens, J., Kann der Winterfrost die Schmarotzerpilze der Rebe vernichten? (Die Weinlaube. 1899. No. 51. p. 605 f. — Nach: Wochenbl. d. landwirtschaftl. Vereins f. d. Großherzogtum Baden.)

Nach den Ausführungen des Verf.'s tötet der Frost die pilzlichen Feinde der Reben und der Obstbäume im normalen Verlaufe der Dinge nicht; er scheint im Gegenteil einen erhaltenden Einfluß auf sie auszuüben, indem er die Zerstörung ihrer Ueberwinterungszustände durch Fäulnis hindert. Man darf sich daher auf die Hilfe des Winters im Kampfe gegen die Rebenkrankheiten nicht verlassen, sondern muß ihre Wiederkehr durch Anwendung der bewährten Mittel, Kupferkalkbrühe und Schwefel, zu verhüten suchen. Moritz (Berlin).

Couanon, G., Michon, J. et **Salomon, E.**, Desinfection antiphylloxériqne des plants de vigne. (Rev. de viticult. T. XII. 1899. No. 310. p. 621.)

Verff. brachten einjährige Wurzelreben zum Zwecke der Desinfektion in heißes Wasser, welches bei Beginn des Eintauchens 53 ° C und bei der Herausnahme der Reben 51 ° C zeigte. In dem einen Falle verblieben die Pflanzen 5 Minuten, in dem anderen 3 Minuten der Wirkung des heißen Wassers ausgesetzt. Diese Reben wurden nachher ausgepflanzt. Eine schädliche Wirkung der Behandlung auf das Wachstum der Reben machte sich nicht geltend. Die Insekten und deren Eier erschienen dagegen getötet. Moritz (Berlin).

Aufruf für Peronosporabekämpfung. K. k. Landwirtschaftsgesellschaft in Wien. (Die Weinlaube. 1899. No. 49. p. 584/85.)

Unter Hinweis auf den großen Schaden, welchen das starke Auftreten der Peronospora im Sommer 1899 zur Folge gehabt hat, wird die weinbautreibende Bevölkerung Niederösterreichs zum Kampfe gegen dieses Uebel aufgerufen und als bewährtestes Mittel die Bespritzung der Reben mit Kupferkalklösung empfohlen. Es wird dabei u. a. darauf hingewiesen, daß ohne Bekämpfung der Peronospora auch in den nächsten Jahren der Weinbau in Niederösterreich mit Erfolg nicht betrieben werden kann. Moritz (Berlin).

B. C., La Lutte contre la fumagine de la vigne. (Rev. de viticult. T. XII. 1899. No. 310. p. 619/620.)

Die als „Fumagine“ (Rußtau — d. Ref.) bezeichnete Rebenkrankheit ist im Jahre 1899 im südfranzösischen Weinbaugebiete mit ungewöhnlicher Heftigkeit aufgetreten, so daß an manchen Stellen die Weinernte beeinträchtigt wurde. Da die „Fumagine“ sich erst infolge der Anwesenheit der weißen Schildlaus („Cochenille blanche“ = Dactylopius vitis Niedelsky — d. Ref.) entwickelt hat, so empfiehlt Verf. eine Bekämpfung dieses Insektes entweder im Winter durch Absengen oder Bestreichen der Reben mit einem insektentötenden Mittel oder im Sommer durch starkes Schwefeln oder durch Besprengen der Reben mit geeigneten Kupfer- und eisenhaltigen Lösungen.

Moritz (Berlin).

Neue Litteratur,

zusammengestellt von

San.-Rat Dr. Arthur Würzburg,

Bibliothekar im Kaiserl. Gesundheitsamte in Berlin.

Systematik, Morphologie und Biologie.

Albert, R. u. Buchner, E., Hefepreßsaft und Fällungsmittel. (Wchschr. f. Brauerei. 1900. No. 4. p. 49—51.)

Bedinghaus, E., Anopterus glandulosus Labill. (Rev. de l'hortic. belge et étrang. 1899. p. 217—218.)

Boveri, Th., Die Entwickelung von Ascaris megalocephala mit besonderer Rücksicht auf die Kernverhältnisse. (Aus: Festschr. f. C. v. Kupffer.) Imp.-4°. 48 p. m. 6 Textfig., 6 Taf. u. 6 Bl. Erklärgn. Jena (G. Fischer) 1900. 12 M.

Chambliss, Ch. E., Scale insects: San Jose and other species. (Univers. of Tennessee Agricult. experim. stat. bullet. Vol. X. 1899. No. 4. p. 141—151.)

Folkerts et Janson, Fabrication de la levure pressée. (Rev. univ. de la brasserie et de la malterie. 1899. No. 1248, 1249.)

Matthews, La fermentation en distillerie. (Rev. univ. de la distillerie. 1899. No. 1229, 1230.)

Nessler, J., Ueber den Zusatz von Salmiak zu den zuckerhaltigen Flüssigkeiten, um die Gärung derselben zu fördern. (Schweiz. Ztschr. f. Obst- u. Weinbau. 1899. No. 24. p. 413—415.)

Pottevin, M., La saccharification de l'amidon. (Gaz. du brasseur. 1899. p. 1372—1374, 1388—1391, 1406—1408.)

Tassi, Fl., Micologia della Provincia Senese. [7. pubblic.] (Bullett. d. Laborat. ed orto botan. di Siena. Vol. II. 1899. Fasc. 3/4. p. 164—195.)

Nahrungs- und Genußmittel im allgemeinen, Gebrauchsgegenstände.

Bier, Brauerei.

Hessenmüller, K., Les bières pasteurisées et leur goût de pain; d'où vient ce goût spécial? (Rev. univ. de la brasserie et de la malterie. 1899. No. 1248, 1249.)

Jacquemin, G., Fermentation alcoolique en présence de certaines feuilles. (Rev. univ. de la brasserie et de la malterie. 1899. No. 1246, 1247.)

Jespers, O., Différents stades d'une fermentation basse. (Bullet. de l'assoc. d. anciens élèves de l'école de brasserie de Louvain. 1899. p. 58—60.)

Matthews, La fermentation en brasserie. (Rev. univ. de la brasserie et de malterie. 1899. No. 1248, 1249.)

Andere Nahrungs- und Genußmittel.

Brick, C., Das amerikanische Obst und seine Parasiten. (Aus: Jahrb. d. Hambg. wiss. Anstalten. 3. Beiheft.) Lex.-8°. 34 p. Hamburg (in Komm. Gräfe & Sillem) 1899. 1,50 M.

Reh, L., Untersuchungen an amerikanischen Obstschildläusen. (Aus: Mitteil. a. d. naturhist. Museum.) Lex.-8°. 19 p. Hamburg (in Komm. Gräfe & Sillem) 1899. 1 M.

Beziehungen der Bakterien und Parasiten zu Pflanzen.

Krankheitserregende Bakterien und Parasiten.

Aderhold, R., Etwas über Herstellung und Verwendung der Bordeauxbrühe (Kupferkalkbrühe). (Gartenflora. 1900. Heft 1, 2. p. 15—17, 38—42.)

v. Aigner-Abafi, L., Acherontia atropos L. IV. Schädlichkeit. (Illustr. Ztschr. f. Entomol. 1900. No. 3. p. 36—38.)

Berlese, A., Risultato di un esperimento secundo il metodo suggerito dal Dott. Perosino per allontanare gli insetti dalle piante. (Bollett. entomol. agrar. 1899. No. 3. p. 56—57.)

— —, Osservazioni circa proposte per allontanare i parassiti dalle piante mercè iniezioni interorganiche. (Bollett. entomol. agrar. 1899. No. 8—10. p. 165—171, 189—192, 213—219.)

Close, C. P., Treatment for gooseberry mildew. (New York agricult. experim. stat. Geneva, N. Y. 1899. Bullet. No. 161. p. 153—164.)

Ewert, Welches Mittel wähle ich zur Bekämpfung der Blutlaus? (Prosk. Obstbau-Ztg. 1900. Jan. p. 8—10.)

Fletcher, J., Injurious insects in 1898. (29. annual rep. of the entomol. soc. of Ontario 1898. 1899. p. 75—87.)

Harrington, W. H., Notes on insects of the year. Division No. 1. Ottawa district. (Annual rep. of the entomol. soc. of Ontario 1898. 1899. p. 87—89.)

Hutt, H. L., A few of the most troublesome insects of the past season (1898). (Annual rep. of the entomol. soc. of Ontario 1898. 1899. p. 93—100.)

Jouvet, F., Le black rot dans le Jura en 1899. (Rev. de viticult. 1900. No. 321. p. 162—164.)

Kilman, A. H., Notes on insects of the year. Division No. 4. Niagara district. (29. annual rep. of the entomol. soc. of Ontario 1898. 1899. p. 90—91.)

Lindemuth, H., Ueber den Gitterrost der Birnbäume. (Gartenflora. 1900. Heft 2. p. 51—52.)

Mathieu, G., Les maladies de la vigne. (Rev. vinic. belge. 1899. p. 70—72.)

Mead, C. E., Collops bipunctatus as an enemy of the Colorado potato beetle. (Amer. naturalist. 1899. No. 396. p. 927—929.)

Millardet, Etude des altérations produites par le phylloxéra sur les racines de la vigne. (Act. de la soc. linnéenne de Bordeaux. Sér. VI. T. III. 1899. p. 151—177.)

Nessler, J., Das Bekämpfen des Mehltaues (Oidiums). (Wchbl. d. landwirtschaftl. Ver. im Großherzogtum Baden. 1900. No. 5. p. 49—52.)

Perraud, J., Succédanés du cuivre pour le traitement du mildiou. (Rev. de viticult. 1900. No. 318. p. 72—75.)

Pêtre, O., Les maladies des arbres. (Amateur des jardins. 1899. p. 84—85.)

— —, La brûlure des arbres fruitiers. (Amateur des jardins. 1899. p. 144—145.)

Quaintance, A. L., Some insects of the year in Georgia. (Proceed. of the 11. meet. of the assoc. of econom. entomol. U. S. Departm. of Agricult. Divis. of entomol. Bull. 20. N. S. 1899. p. 56—60.)

Rennie, R. W., Notes on insects of the year. Division No. 5. London district. (29. annual rep. of the entomol. soc. of Ontario 1898. 1899. p. 91—92.)

Rodigas, E., Clématites; moyen préventif contre la maladie. (Bullet. d'arboricult. et de floricult. potagère. 1899. p. 162—163.)

— —, Microbes chez les fleurs. (Ibid. p. 249—250.)

v. Schilling, Der Rindenwickler, ein nichtswürdiger Krebserreger. (Prakt. Ratgeber im Obst- und Gartenbau. 1900. No. 4. p. 29—31.)

Schoffer, Zur Bekämpfung des Oïdiums durch Schwefel. (Württemb. Wchbl. f. Landwirtsch. 1900. No. 5. p. 58.)

Waldron, C. B., Destructive insects of North Dakota. (North Dakota stat. bullet. 1899. No. 34. p. 293—304.)

Willot, Destruction des nématodes de la betterave. (Laiterie prat. 1899. p. 125.)

Wortmann, J., Zur Bekämpfung des Oïdium Tuckeri. (Mitteil. üb. Weinbau u. Kellerwirtsch. 1900. No. 1. p. 1—6.)

Inhalt.

Originalmitteilungen.

Referate.

Entwickelungshemmung und Vernichtung der Bakterien etc.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.

CENTRALBLATT
für
Bakteriologie, Parasitenkunde u. Infektionskrankheiten.

Zweite Abteilung:
Allgemeine, landwirtschaftlich-technologische Bakteriologie, Gärungsphysiologie, Pflanzenpathologie und Pflanzenschutz.

In Verbindung mit
Prof. Dr. Adametz in Wien, Prof. Dr. J. Behrens in Karlsruhe i. B., Prof. Dr. M. W. Beijerinck in Delft, Geh. Regierungsrat Prof. Dr. A. B. Frank in Berlin, Dr. v. Freudenreich in Bern, Privatdocent Dr. Lindau in Berlin, Prof. Dr. Lindner in Berlin, Dr. Morris, Chef des Hansen-Laboratory, Jenner-Institute of Preventive Medicine in London, Prof. Dr. Müller-Thurgau in Wädensweil, Dr. Erwin F. Smith in Washington, D. C., U. S. A., Prof. Dr. Stutzer in Breslau, Prof. Dr. Wehmer in Hannover, Prof. Dr. Weigmann in Kiel und Prof. Dr. Winogradsky in St. Petersburg
herausgegeben von
Dr. O. Uhlworm in Cassel
und
Prof. Dr. Emil Christian Hansen in Kopenhagen.

Verlag von Gustav Fischer in Jena.

VI. Bd. Jena, den 30. April 1900. No. 9.

Jährlich erscheinen 26 Nummern. Preis für den Band (Jahrgang) 20 Mark.
Preis für eine einfache Nummer 75 Pfg., für eine Doppelnummer 1 Mark 50 Pfg.
Nummern mit Tafeln kosten für jede Tafel 50 Pfg. mehr.
Hierzu als regelmäfsige Beilage die Inhaltsübersichten der I. Abteilung des Centralblattes.

Wünsche wegen Lieferung von besonderen Abdrücken wollen die Herren Mitarbeiter auf die Manuskripte schreiben oder bei Rücksendung der ersten Korrekturabzüge der Verlagsbuchhandlung mitteilen.

Original-Mitteilungen.

Nachdruck verboten.

Ueber die Bakteroiden der Leguminosenknöllchen und ihre willkürliche Erzeugung ausserhalb der Wirtspflanzen.

Von Dr. **L. Hiltner** in Berlin.

In dem vor wenigen Wochen erschienenen Heft 3 der „Mitteilungen der landwirtschaftlichen Institute der kgl. Universität Breslau“ bringt Prof. A. Stutzer eine höchst interessante Mitteilung [1]) über

1) p. 57—71. 1 Taf.

die Ergebnisse seiner Versuche, die bekannten Bakteroiden, zu welchen sich die Stäbchen von Bacterium radicicola innerhalb der Knöllchen meist umwandeln, auch außerhalb der Pflanzen willkürlich zu erzeugen. Es ist ihm dies thatsächlich und zwar in höchst einfacher Weise dadurch gelungen, daß er die Nährflüssigkeiten, in welchen er die aus Knöllchen von Vicia Faba stammenden Organismen kultivierte, schwach ansäuerte.

Wiederholt hatte Stutzer in den letzten Jahren versucht, die Bakteroiden in künstlichen Nährmedien zu züchten, da er sich nicht mit dem Gedanken vertraut machen konnte, daß diese Gebilde degenerierte Formen des Bacterium radicicola seien, sondern sie vielmehr für eine höhere Wuchsform dieses Organismus ansah. Es wurden zunächst teils feste Nährböden von Agar mit Zusätzen von Asparagin, Glukose und verschiedenen Salzen, teils Lösungen dieser Substanzen ohne Agar, ferner Abkochungen der grünen Blätter verschiedener Leguminosenpflanzen mit und ohne Zugabe von Agar verwendet und allen diesen verschiedenen Nährböden entweder eine neutrale oder eine ganz schwach alkalische Reaktion gegeben. „Unter solchen Verhältnissen gedieh das Bacterium radicicola vortrefflich, aber die Formen desselben hatten nicht die geringste Aehnlichkeit mit Bakteroiden, es blieben Stäbchen, die später in alten Kulturen in ihrem Innern sehr kleine Kokken zu bilden schienen.“

Trotz dieser wiederholten Mißerfolge unternahm Stutzer im vergangenen Frühjahr weitere solche Versuche und zwar wurden jetzt die bisher benutzten Nährflüssigkeiten durch Zugabe geringer Mengen von organischen Säuren schwach sauer gemacht. Bei einem Gehalt von ungefähr 0,05 Proz. dieser Säuren und nach Uebertragung des aus frischen Knöllchen erhaltenen Bacterium radicicola bildeten sich Formen, welche ganz eigentümliche, echte Verzweigungen hatten; bei Benutzung eines schwach sauer reagierenden Agarnährbodens fanden sich ebenfalls und zwar nur in ganz jungen Kolonieen hin und wieder verzweigte Formen, indessen geschah die Vermehrung der Organismen auf dem festen Nährboden fast ausschließlich in Form von Stäbchen.

In den sauren Flüssigkeiten wichen die neuen Wuchsformen von denjenigen der in den Knöllchen enthaltenen Bakteroiden ab; sie waren größer und stark verzweigt. „Aber darüber konnte kein Zweifel bestehen, daß wir nicht einen degenerierten Organismus, sondern ein Lebewesen vor uns hatten, welches auf einer höheren Stufe der Entwickelung stand, als jene längst bekannte Stäbchenform, die man bisher in künstlichen Nährmedien züchtete.“ Die besten Verzweigungen wurden nach folgendem Zusatz organischer Säuren zu je 1 l Nährflüssigkeit erhalten: Bernsteinsäure 0,5 g; Citronensäure 0,5 g; Weinsäure 0,75 g; Aepfelsäure 1,00 g.

Auch in Lösungen, die statt organischer Säuren KH_2PO_4 oder K_2HPO_4 enthielten, entwickelten die Knöllchenbakterien verzweigte Formen.

Stutzer schließt seine Ausführungen mit dem Bemerken, daß „die willkürlich beeinflußte Umwandlung eines bisher von den meisten Forschern zu den Bakterien gerechneten Lebewesens in einen Or-

ganismus mit unzweifelhaft echten Verzweigungen geeignet sein dürfte, die Aufmerksamkeit weiterer Kreise in Anspruch zu nehmen".

Bevor ich auf die Arbeit Stutzer's etwas näher eingehe, möchte ich noch darauf hinweisen, daß Stutzer in der Einleitung zu derselben einen ausführlichen Ueberblick giebt über die Morphologie der Knöllchenbakterien nach den bisherigen Erfahrungen. Die Ergebnisse zu welchen Beijerinck und Prazmowski durch ihre grundlegenden Arbeiten gelangten, finden sich in dieser Uebersicht ohne jede Kritik zusammengestellt mit jenen von Gonnermann und anderen, deren offenbare Unrichtigkeit für jeden, der sich einigermaßen eingehend mit den in Frage stehenden Organismen beschäftigt hat, völlig auf der Hand liegt. Dadurch wird der Eindruck hervorgerufen, als wären die Anschauungen über die Knöllchenbakterien bisher noch völlig ungeklärt. Dies ist aber thatsächlich nicht der Fall. Wohl wären und sind noch viele Einzelheiten in der Morphologie dieser interessanten Organismen einer näheren Untersuchung dringend bedürftig, aber daß dieselben nicht etwa, wie vermutet worden ist, zu den Ustilagineen gehören, daß die Knöllchen der Erbse nicht, wie Gonnermann angiebt „auf einem Boden durch diese, auf einem anderen durch jene" Bakterien erzeugt werden, sondern daß die Knöllchen sämtlicher Leguminosen durch die Wirkung ganz spezifischer Organismen mit wohlcharakterisierten Eigenschaften und der Fähigkeit innerhalb der Knöllchen verzweigte oder sonstwie von normalen Stäbchen abweichende Formen zu bilden, entstehen, darüber hat schon seit Jahren ein Zweifel nicht mehr bestanden. In dieser Beziehung bringt die Arbeit Stutzer's durchaus nichts Neues. Die sicherlich große Bedeutung derselben liegt nur in dem Nachweis, daß es möglich ist, die Entstehung von bakteroidenartigen Formen auch außerhalb der Pflanze in künstlichen Lösungen willkürlich hervorzurufen.

Daß Bakteroiden auch außerhalb der Knöllchen sich bilden können, ist schon von verschiedenen Seiten festgestellt worden, und auch Stutzer bringt hierüber einige Angaben. Ich erinnere nur an die Arbeit von Beijerinck[1]): „Ueber die Aufnahme von atmosphärischem Stickstoff in Kulturen von Bacillus radicicola", in welcher sich die Bemerkung findet, daß die Kulturen, welche $^1/_{30}$—$^1/_{20}$ g Kaliumphosphat erhalten hatten, ein kräftiges Wachstum zeigten und „Sterne und Bakteroiden" enthielten.

Auch in den Tharander Publikationen ist gelegentlich darauf aufmerksam gemacht, daß sich in den Reinkulturen neben normalen Stäbchen Bakteroiden in großer Anzahl vorfanden[2]). (Auf die Arbeiten der Versuchsstation Tharand auf diesem Gebiete wird übrigens in der von Herrn Prof. Stutzer gegebenen Uebersicht wiederholt Bezug genommen. Dabei ist aber stets als Autor der Tharander Arbeiten nur Herr G. R. Nobbe angegeben und mein Name nicht ein einziges Mal erwähnt, obgleich von Tharand bisher keine einzige Veröffentlichung über die Leguminosenfrage und die Knöllchenbakterien erfolgt

1) Centralbl. f. Bakteriologie. Bd. XII. 1892. p. 687.
2) Vergl. z. B. Landw. Vers. Stat. Bd. XXXIX. 1891. p. 358.

ist, bei welcher ich nicht ausdrücklich als Verfasser mitgenannt bin. Ich möchte dies nur anführen, um in den Augen derjenigen, welche die Tharander Arbeiten nur aus der Stutzer'schen Darstellung kennen, nicht als unberechtigt zu erscheinen, an den weiteren Erörterungen über diese Fragen teilzunehmen.)

Aber auch die willkürliche Hervorrufung der Bakteroidenbildung ist mir schon seit Jahren bekannt. Ich habe allerdings hierüber nichts veröffentlicht, weil ich die betreffenden Beobachtungen erst noch weiter ausbauen wollte und Herrn Prof. Stutzer gebührt demnach die Priorität dieser Entdeckung.

Daß ich die Möglichkeit, Bakteroidenbildung willkürlich außerhalb der Knöllchen zu veranlassen, bereits seit längerer Zeit kannte, dürfte daraus hervorgehen, daß ich schon Anfang August des vergangenen Jahres gelegentlich der Unterhandlungen über meinen Uebertritt an die biologische Abteilung des kaiserl. Gesundheitsamtes in einer von mir gegebenen Darstellung meiner Arbeitspläne es als eine meiner ersten Aufgaben bezeichnete, meine Versuche über diese Frage zu erweitern und zum Abschlusse zu bringen. Ich bin allerdings zu einem solchen Abschlusse noch nicht gelangt, da andere Versuche meine Zeit zu sehr in Anspruch nahmen. Immerhin aber möchte ich unter den gegebenen Umständen es nicht unterlassen, in Kürze mitzuteilen, wie weit bis jetzt meine diesbezüglichen Versuche gediehen sind.

Im Winter 1895/96 zeigten zu meiner großen Ueberraschung sämtliche Arten der Knöllchenbakterien, welche wir damals in Tharand durch wiederholte Ueberimpfungen auf Leguminosengelatine für die ersten Frühjahrsversuche in Kultur hielten, die auffallende Erscheinung, daß die Kolonieen nicht aus einfachen Stäbchen, sondern aus zum Teil mächtig entwickelten Bakteroiden bestanden. Ausstrichpräparate solcher Kulturen befinden sich noch in der Tharander Sammlung. Die betreffenden Kulturen entwickelten sich außerordentlich üppig und ließen in ihrem makroskopischen Aussehen nicht die geringste Abweichung von den aus einfachen Stäbchen bestehenden wahrnehmen. Diese merkwürdige Thatsache hat natürlich von Anfang an unser lebhaftes Interesse erregt. Ließ sie doch klar erkennen, daß die Bakteroiden teilungs- und vermehrungsfähig sind und daß sie als solche durch mehrere Generationen hindurch fortgezüchtet werden können, ohne eine Einbuße ihrer Entwickelungsfähigkeit zu erleiden. Schon damals war ich bestrebt, die Ursache dieser Erscheinung aufzudecken. Da die Schalen und Röhrchen, in welchen die Kulturen gezüchtet wurden, erst kurze Zeit, bevor zum ersten Male die Bakteroidenbildung bei der mikroskopischen Untersuchung hervortrat, wegen Mangel an einem staubfreien Platze im Laboratorium nicht in diesem, sondern in einem ungeheizten Raume aufbewahrt worden waren, in dem die Temperatur bis auf + 2° C. gesunken war, so vermutete ich zunächst, die Einwirkung der Kälte hätte zur Entstehung der Bakteroiden Veranlassung gegeben. Hierauf gerichtete Versuche ergaben jedoch für diese Annahme keine Bestätigung. Eine gemeinsame Ursache mußte aber der Erscheinung zu Grunde liegen;

denn es zeigten, wie gesagt, sämtliche Kulturen, die von den verschiedensten Leguminosenarten stammten, in gleicher Weise, wenn auch in verschiedenem Grade die Umwandlung in Bakteroiden und da im Frühjahr, als wir frisch bereitete Gelatine verwendeten, die weiter gezüchteten Kulturen wieder ausschließlich normale Stäbchen aufwiesen, so lag es auf der Hand, daß nur die besondere Beschaffenheit der während des Winters als Nährmedium benutzten Gelatine die Formänderung der Bakterien bedingt haben konnte. Diese Gelatine aber wich thatsächlich in ihrer Zusammensetzung von jener, welche wir gewöhnlich verwendeten, nicht unwesentlich ab. Während wir sonst nur einen Extrakt grüner Leguminosenteile zur Herstellung derselben benützten, hatten wir im Herbst 1895 6—8 Wochen alte Pflänzchen, hauptsächlich Lupinen und Serradella, in ihrer Gesamtheit, also oberirdische Organe und Wurzeln, zur Bereitung des Extraktes verwendet. Dieser Beigehalt eines sonst fehlenden Wurzelextraktes mußte demnach wahrscheinlich die Bakteroidenbildung veranlaßt haben und dies hat sich bei späteren Versuchen in der That bestätigt. Es ist damit der Beweis geliefert, daß die Bildung der Bakteroiden innerhalb der Knöllchen bedingt ist durch den Einfluß gewisser Substanzen, welche in den Zellen des Knöllchengewebes enthalten sind. Daß es sich hier nicht ausschließlich um die Wirkung von Säuren oder sauren Salzen handelt, scheint mir ziemlich sicher. In einem $^1/_4$-proz. Extrakt aus gereinigtem Lakritzensaft, der bekanntlich aus der Wurzel einer Leguminose, Glycyrrhiza, hergestellt wird, entstehen beispielsweise allerdings klein bleibende Bakteroiden aus eingeimpften Stäbchen, trotzdem derselbe deutlich alkalisch reagiert. Die von uns in Tharand so oft festgestellte Thatsache, daß nicht angepaßte Bakterien, sofern sie überhaupt Knöllchen erzeugen, innerhalb derselben keine Umwandlung in Bakteroiden erfahren, deutet sogar darauf hin, daß vielleicht auch direkte Wirkungen des lebenden Protoplasmas der Wurzelzellen eine Rolle spielen.

Das vorstehend Mitgeteilte enthält die Thatsachen, die mir seit Jahren bekannt waren, und auf ihnen sollten die weiter von mir in Berlin auszuführenden Versuche fußen. Ende Oktober des vergangenen Jahres erhielt ich dann noch Kenntnis davon [1]), daß es Dr. Hartleb, dem früheren Mitarbeiter Stutzer's, gelungen sei, Bakteroidenbildung in Nährlösungen hervorzurufen, welche mit einem sauren phosphorsauren Salze angesäuert waren. Dies gab mir Veranlassung zur Durchführung eines vergleichenden Versuches, bei welchem das Verhalten von Knöllchenbakterien verschiedenen Ursprungs in einer derartigen Lösung (im folgenden als Lösung a bezeichnet) und in einem verdünnten, mit Asparagin und Traubenzucker versetztem Extrakt (Lösung b), der aus den oberirdischen Organen und den Wurzeln von 6 Wochen alten Erbsenpflanzen gewonnen war, geprüft wurde. Versuche, bei denen nur Wurzelextrakt zur Verwendung gelangte, habe ich erst jetzt begonnen, da mir Leguminosenwurzeln in größerer Menge vorher nicht zur Verfügung standen.

1) Durch Patentanmeldung H. 22455 IV/45b.

Die Lösung a enthielt in 1 l Leitungswasser saures phosphorsaures Kali 0,55 g, Traubenzucker 12,5 g, Asparagin 3,9 g, d. h. sie hatte nach den Angaben von Hartleb die günstigste Zusammensetzung für die Bildung von Bakteroiden.

Am 23. Dezember 1899 wurde aus Strichkulturen von Knöllchenbakterien je eine Platinöse voll entnommen und in die Lösungen in der Weise übertragen, daß das durch Schleim zusammenhängende Flöckchen zunächst im Wasser sich möglichst wenig zerteilte.

Bereits nach 4 Tagen war in beiden Lösungen beginnende Bakteroidenbildung zu konstatieren. Eine am 10. Januar vorgenommene genauere Untersuchung ergab:

1) Impfung mit Bakterien von Pisum sativum: In der Lösung a hat sich eine an der Glaswand ziemlich festsitzende flockige Haut gebildet; die Lösung selbst ist vollständig klar geblieben. Die Lösung b ist sehr stark getrübt; ein starker Bodensatz ist ebenfalls etwas flockig.

In beiden Fällen finden sich sehr schön entwickelte netzige Bakteroiden von oft bedeutender Größe und zum Teil mit sporenartigen Einschlüssen.

2) Impfung mit Bakterien von Robinia Pseudacacia, die seit 6 Monaten stets auf Erbsengelatine weitergezüchtet worden waren: In beiden Lösungen üppiges Wachstum; starke Trübung, keine Hautbildung. Die Bakteroiden sind in Lösung a entschieden größer als in b und haben zum Teil die Form, die sich auch in den Robinia-Knöllchen vorfindet.

3) Impfung mit Bakterien von Trifolium repens: In Lösung a hat sich das von Anfang an vorhandene Flöckchen kaum vergrößert; die Lösung ist vollständig klar. Dieses Flöckchen besteht aus großen, rundlichen Bakteroiden. In der Lösung b ist das Wachstum ein ganz außerordentlich üppiges. Fast die ganze Lösung ist von einer mächtigen Zoogloea erfüllt, die ebenfalls aus Bakteroiden besteht. Dieselben sind sogar noch größer als in Lösung a und es erweckt fast den Anschein, als wenn sie sich durch Sprossung vermehrten. In beiden Lösungen finden sich in vielen Bakteroiden sporenartige Gebilde.

4) Impfung mit Bakterien von Ornithopus sativus. In Lösung a ist kein Zuwachs zu konstatieren, während in b ein starker und etwas häutiger Bodensatz vorhanden ist. In beiden Lösungen finden sich schön entwickelte Bakteroiden mit deutlichen Verzweigungen. Die Glieder dieser Bakteroiden sind entschieden feiner, als jene von Erbse und Robinia.

5) Impfung mit Bakterien von Lupinus luteus: In beiden Lösungen entspricht das Verhalten durchaus jenem der Serradella-Bakterien.

In den meisten Fällen hat sich demnach die von Hartleb angegebene Lösung a zur Vermehrung der eingeimpften Organismen als ungeeignet erwiesen; sie hat nur die Umwandlung der eingeimpften Stäbchen in Bakteroiden bewirkt, während sich in der Erbsenlösung die Organismen sehr reichlich, zum Teil üppig vermehrten und ebenfalls eine Umwandlung in Bakteroiden erfuhren. Das bemerkenswerteste

Resultat dieses Versuches ist aber das folgende: Die entstandenen Bakteroiden glichen in ihrer Form mehr oder minder jener, welche in den Knöllchen der zugehörigen Pflanzenart sich vorfindet. Namentlich tritt dies scharf bei den Bakteroiden von Robinia, Ornithopus, Lupinus und Trifolium hervor; während bei jenen von Pisum die charakteristische Gabelung wenig zu bemerken ist. Die Robinia-Bakteroiden zeigen wenig Verzweigungen und weisen nur eine bedeutende Größe gegenüber den unveränderten Bakterien auf; die Lupinen- und Serradella-Bakterien haben sich in zierliche, namentlich bei Serradella oft verzweigte, feingliedrige Bakteroiden umgewandelt und die Trifolium-Bakteroiden sind mehr kugelig angeschwollen, so daß sie durch die gleichzeitig eingetretene Verzweigung Gebilde darstellen, die sprossenden Hefezellen ähnlich sehen. Selbstverständlich wurde in allen Fällen die Reinheit der Kulturen vor und nach der Beendigung des Versuchs festgestellt.

Die Gestalt der Bakteroiden hängt also nicht ausschließlich von der Art der Wirtspflanze, sondern auch von der Art der Bakterien ab. Dieses Ergebnis erscheint um so überraschender, als die zahlreichen in Tharand durchgeführten Versuche in ihren Ergebnissen doch kaum einen Zweifel darüber ließen, daß die aus den verschiedenen Knöllchen stammenden Bakterien nicht verschiedene Arten, sondern nur Anpassungsformen repräsentieren. In nächster Zeit wird von Tharand aus ein Versuch zur Veröffentlichung gelangen, bei dem es vollständig gelungen ist, Erbsenbakterien in Bohnenbakterien umzuwandeln, sowohl in Bezug auf die Form der in den Knöllchen entstehenden Bakteroiden, als bezüglich der Wirkung auf Erbsen- und Bohnenpflanzen.

Da in beiden Fällen, von denen also der eine dafür spricht, daß die verschiedenen Knöllchenbakterien auch morphologisch unterscheidbare Arten darstellen, während der andere die von Nobbe und mir aufgestellte Hypothese unterstützt, nach welcher sie nur Anpassungsformen einer gewissermaßen neutralen Art darstellen, nach meinem Dafürhalten eine Täuschung bei der Beobachtung ausgeschlossen ist, so würde sich demnach der an sich ja nicht gerade wahrscheinliche Schluß ergeben, daß die Aenderungen, welche die Knöllchenbakterien unzweifelhaft durch Beeinflussung seitens der Wirtspflanzen in physiologischer Beziehung erleiden können, zugleich auch von solchen morphologischer Natur begleitet sind. Ich werde nicht verfehlen, über diese Frage weitere Versuche anzustellen. Soviel aber erscheint mir jetzt schon sicher, daß die Knöllchenbakterien in verschiedene Gruppen zerfallen, die vielleicht als Rassen aufzufassen sind. Die Serradella- und Lupinenbakterien, welche im Gegensatz zu allen übrigen auf gelatinösen Nährmedien nur sehr schlecht wachsen und die auch sonst noch Abweichungen erkennen lassen, dürften sogar eine besondere Art darstellen.

Was die bei Erbsen- und Weißkleebakteroiden beobachtete anscheinende Sporenbildung anbelangt, so werde ich hierauf bei anderer Gelegenheit zurückkommen. Hier sei nur erwähnt, daß die betreffenden Gebilde in Mehrzahl in einem Bakteroid vorkommen können und daß sie sich durch ihre gleichmäßige Größe und durch

stärkere Tingierbarkeit von den sonstigen Inhaltsbestandteilen der Bakteroiden scharf abheben. Schließlich noch ein Wort über die morphologische Deutung der Bakteroiden. Während im allgemeinen die Anschauung verbreitet ist, daß dieselben lediglich Involutionsformen der Knöllchenbakterien darstellen, gelangt Stutzer zu dem Schluß, sie repräsentierten eine höhere Wuchsform dieser Organismen Dieser Schlußfolgerung vermag ich mich nicht ohne weiteres anzuschließen; denn ich kann nicht einsehen, was dazu berechtigt, eine verzweigte Form eines sonst stäbchenförmigen Organismus als höher organisiert, als letzteren zu erklären. Wer je den regelmäßigen Bau und die außerordentlich feinnetzige Struktur der Bakteroiden von Medicago- und Trifolium-Arten gesehen hat, wird allerdings andererseits nicht zugeben können, daß es sich bei denselben um Involutionsformen handelt. Der Bau der Bakteroiden erinnert ganz auffallend an jenen, welchen gewisse Bakterienarten, die Bütschli genauer studierte, in unverändertem Zustande zeigen. Als ich die photographischen Abbildungen zum ersten Male sah, welche Bütschli in seinem bekannten Werke über den Bau der Bakterienzelle als Belege für seine Anschauungen vorführt, glaubte ich zunächst, dieselben sollten Bakteroiden darstellen. Meine Ansicht geht dahin, daß die Bakteroiden lediglich vergrößerte Bakterien sind, bei denen die vielleicht ursprünglich schon vorhandene, aber mit unseren jetzigen Hilfsmitteln nicht sicher zu beobachtende wabige Struktur des Plasmakörpers nur schärfer hervortritt. Ich halte demnach die Bakteroiden für ein vorzügliches Objekt zum Studium des feineren Baues der Bakterienzelle.

Nobbe und ich haben bereits früher näher dargelegt, wie aus den einfachen Stäbchen der Robinia-Bakterien allmählich die um des Vielfache größeren Bakteroiden entstehen, indem das ursprünglich scheinbar undifferenzierte Protoplasma durch Vakuolenbildung eine zum Teil netzförmige Struktur erhält. Geht die Vergrößerung der Bakteroiden über ein gewisses Maß hinaus, nehmen namentlich die Vakuolen an Zahl und Größe zu, so daß die sie umschließenden Plasmabalken immer dünner werden, so rufen sie allerdings das Bild echter Involutionsformen hervor, bei denen auch irgend eine Regelmäßigkeit in der Struktur nicht mehr wahrzunehmen ist. Hier kann von einer höheren Wuchsform nicht mehr die Rede sein, im Gegenteil zeigen solche Gebilde alle Anzeichen der Degeneration, welcher sie schließlich auch, mindestens innerhalb der Knöllchen, zum Opfer fallen, indem nur einzelne ihrer Teile wieder in normale Stäbchen sich zurückzuverwandeln vermögen. Ich nehme deshalb an, daß die Knöllchenbakterien in einem sauren Nährmedium im Gegensatz zu den meisten anderen Bakterien gerade deswegen nicht zu Grunde gehen, weil sie sich durch Bakteroidenbildung vor dem an sich schädlichen Einfluß desselben schützen können; eine eigentliche Degeneration aber erleiden sie erst, wenn dieser Einfluß zu lange Zeit und zu stark sich geltend macht.

Auf verschiedene andere mit der Bakteroidenbildung zusammenhängende Fragen, wie das Zustandekommen ihrer gegenseitigen zur Netzbildung führenden Anlagerung innerhalb der Knöllchenzellen und

die Entstehung von Bakteroiden auch durch andere Einflüsse als saure Beschaffenheit des Nährmediums werde ich bei späterer Gelegenheit zurückkommen. Ich würde auch die vorstehend mitgeteilten Beobachtungen noch nicht der Oeffentlichkeit übergeben haben, wenn ich nicht durch die Arbeit Stutzer's gezwungen worden wäre, mir das Recht, auch meinerseits über die Frage der Bakteroidenbildung weiter zu arbeiten, uneingeschränkt zu wahren.

10. März 1900.

Ueber einige in reifen Käsen gefundene Milchsäurebakterien.

[Aus dem milchwirtschaftlich-chemischen und bakteriologischen Laboratorium des landwirtschaftlichen Instituts der Universität Göttingen.]

Von **G. Leichmann** und **S. v. Bazarewski.**

(Fortsetzung.)

Nach dem hier Mitgeteilten darf man wohl die beiden bisher beschriebenen Organismen als identisch betrachten. Man darf fernerhin wohl auch annehmen, daß sie von dem von v. Freudenreich (cf. Koch's Jahresbericht. Bd. I. 1890. p. 93) in Emmenthalerkäse häufig und zahlreich gefundenen Bacillus α nicht verschieden sind, welcher als 1 μ langes Stäbchen mit abgerundeten Enden beschrieben wird, dessen Zellen häufig zu zweien verbunden sind, auf manchen Nährböden aber vorwiegend in Kettenform auftreten. Hinsichtlich der Kulturmerkmale scheint eine Verschiedenheit nicht zu bestehen. Auch dieser Organismus bildet in zuckerhaltiger Bouillon gewöhnlich einen Bodensatz, ohne diffuse Trübung zu bewirken. Er erzeugt ferner beim Wachstum in Milch Rechtsmilchsäure neben Spuren flüchtiger Säure. Freilich soll er überdies noch geringe Mengen CO_2 bilden. Wir konnten bei unseren Organismen eine Produktion freier Gase niemals beobachten, doch wäre es noch zu ermitteln, ob nicht geringe Mengen von CO_2 erzeugt werden, die aber in den vergorenen zuckerhaltigen Nährflüssigkeiten absorbiert bleiben.

Fernerhin machten wir die Bemerkung, daß unsere Bacillen große Aehnlichkeit aufweisen mit den von Weiß[1]) aus sauren Rübenschnitzeln isolierten milchsäurebildenden Stäbchenformen, welche als Bacterium pabuli acidi I und II beschrieben wurden. Da uns Reinkulturen dieser beiden Formen zur Verfügung standen, haben wir nicht versäumt, eine eingehende Vergleichung derselben mit unseren aus Käse gewonnenen Kulturstämmen vorzunehmen, über deren Ergebnis wir Nachstehendes mitteilen können.

In morphologischer Beziehung scheinen uns die genannten 4 zur

---

1) Weiß, E., Ueber drei in gesäuerten Rübenschnitzeln neu aufgefundene Milchsäurebakterien. [Inaug. Dissert.] Göttingen 1898 u. Journ. f. Landwirtsch. 1899. p. 141.

Vergleichung herangezogenen Kulturstämme untereinander völlig übereinstimmend zu sein.

Wir möchten auch den geringfügigen Unterschieden, welche Weiß zwischen jenen beiden Formen konstatierte, einen großen differentialdiagnostischen Wert nicht beilegen. Wir geben zu, daß Bacterium pabuli acidi I in Bouillon und Agar, wo dasselbe in langen Kettenverbänden auftritt, vorwiegend ganz kurze, kokkenähnliche Einzelzellen bildet, doch haben wir mehrfach in diesen Substraten auch bei dieser Form längliche Stäbchen wie bei den anderen Organismen zahlreich in Kettenverbänden beobachten können.

Was die Angabe von Weiß betrifft, daß Bact. pab. acidi I in Milch eine Kapsel bilden soll, Bact. pab. ac. II dagegen nicht, bemerken wir Folgendes. Wir konnten gelegentlich bei allen diesen Organismen solche Bilder beobachten, wie sie Weiß auf Taf. I b[1]) wiedergegeben hat, wenn wir Milchkulturen dieser Formen zur Darstellung gefärbter Präparate benutzten. Doch traten diese Bilder nur an solchen Stellen der Präparate auf, wo eine dünne, zarte, homogene, am Deckglase angetrocknete und mitgefärbte, die Stäbchen einschließende Caseïnschicht vorhanden war. Wo diese Caseïnschicht aber fehlte, waren auch jene ungefärbten Zonen im Umkreise der Stäbchen nicht sichtbar und hatte man ein Bild, wie es von Weiß, Taf. I Fig. d, wiedergegeben worden ist. Auch solche Bilder (ohne Kapsel) haben wir bei allen diesen Organismen, Bact. pab. ac. I nicht ausgenommen, an gefärbten, aus Milchkultur dargestellten Präparaten gelegentlich beobachten können.

Nach eingehender vergleichender Beobachtung unserer 4 Kulturstämme müssen wir konstatieren, daß die oben von Bacterium casei I gegebene morphologische Beschreibung für alle diese Organismen bis ins einzelne zutreffend ist, und daß ferner die von Weiß gegebenen Abbildungen, Taf. I a—d[2]), zur Charakterisierung aller dieser Kulturstämme insgesamt sehr wohl dienen können. Nur haben wir in Agarstrichkulturen ein so ausschließliches Vorherrschen isolierter Einzelstäbchen, wie es in Fig. c hervortritt, niemals zu konstatieren Gelegenheit gehabt. Vielmehr fanden wir in Agarstrichkulturen stets, auch bei Bact. pab. acidi II Weiß, welches in diesem Bilde dargestellt ist, diese Stäbchen nur selten vereinzelt, sondern meist zu langen Ketten aneinandergereiht.

Indem wir unsere 4 Kulturstämme vergleichsweise auf verschiedenen Nährböden gleichzeitig und unter denselben Bedingungen züchteten, vermochten wir bemerkenswerte Unterschiede in den Kulturmerkmalen nirgends festzustellen.

Dagegen zeigten die beiden aus Rübenschnitzeln isolierten Formen gegenüber den oben beschriebenen Formen aus dem Emmenthaler- und Chesterkäse einige Verschiedenheiten in ihrem Verhalten bei verschiedenen Wärmegraden, indem ihr Temperaturmaximum höher liegt, als es bei diesen beobachtet wurde.

---

1) Journ. f. Landw. l. c.

2) Journ. f. Landw. l. c.

Bacterium pabuli acidi I Weiß
bringt sterile Milch in Kulturröhrchen zum Gerinnen
bei 30° in 6—10 Tagen
„ 33° „ 3—4 „
„ 40° „ 3—4 „
„ 42° „ 3—4 „

Bei 45° trat in einigen Fällen Gerinnung der infizierten Milch ein, in anderen Fällen nicht; bei 48° erfolgte keine Gerinnung.

Traubenzuckerbouillon, welche mit diesen Bacillen geimpft wurde, blieb klar, wenn sie bei 48° gehalten wurde, ebenso auch in einigen Fällen bei 45°, in anderen Fällen wurde bei diesem Wärmegrade eine geringfügige Trübung der Flüssigkeit beobachtet. Bei 42° trat in der Traubenzuckerbouillon stets eine rasche und üppige Vermehrung der eingesäten Organismen ein.

Bacterium pabuli acidi II Weiß
bringt sterile Milch in Kulturröhrchen zum Gerinnen
bei 28° in ca. 12 Tagen
„ 30° „ „ 6—11 „
„ 33° „ „ 4—6 „
„ 40° „ „ 4—5 „

Bei 42° trat einmal in 3 Tagen, in zwei anderen Versuchen aber erst nach 11—15 Tagen die Gerinnung der infizierten Milch ein. Bei 45° vermochte dieser Bacillus eine Koagulation der Milch nicht herbeizuführen. Indessen vermehrte er sich bei diesem Wärmegrade noch recht gut in Traubenzuckerbouillon; bei 48° aber vermochte er auch in diesem Substrate nicht mehr zu gedeihen.

Beim Wachstume in Bouillon bilden diese beiden Organismen nur sehr selten eine diffuse Trübung, öfter einen grobflockigen Niederschlag, der sich leicht zu Boden senkt. Gewöhnlich aber sieht man von vornherein nur auf dem Grunde des Kulturröhrchens einen geringen, flockigen Bodensatz entstehen, der sich bei völlig klar bleibender Nährflüssigkeit langsam vermehrt.

Bacterium casei I und II zeigen ähnliche Erscheinungen, bilden aber häufig auch eine diffuse Trübung in der Bouillon.

Ferner ließen sich einige bemerkenswerte Verschiedenheiten konstatieren, als wir das Verhalten unserer Organismen den verschiedenen Zuckerarten gegenüber in Betracht zogen.

Nachdem wir für Bacterium casei I und II die hierauf bezüglichen Untersuchungsergebnisse oben mitgeteilt haben, geben wir im Nachstehenden die bei Bacterium papuli I und II gemachten Beobachtungen wieder (s. Tab. p. 284 u. 284.)

Hier muß nun ganz besonders hervorgehoben werden, daß, während die aus Käse gewonnenen Kulturstämme den Rohrzucker nicht oder nur in sehr geringem Maße angreifen, die beiden aus Rübenschnitzeln stammenden Formen diese Zuckerart sehr energisch zu zersetzen imstande sind (und zwar, wie Weiß gezeigt hat, unter Bildung von Milchsäure). Wir weisen noch darauf hin, daß Bacterium pabuli acidi I Weiß in Milchzuckerlösung erheblich mehr

Bacterium pabuli acidi II Weiß.

Nährsalzlösung + 1 Proz. Pepton	Nach 35-tägigem Verweilen der Röhrchen im Thermostaten bei 30°		
	Makroskopischer Befund an den Kulturflüssigkeiten	Acidität bestimmt durch Titration mit $\frac{N}{4}$-Natronlauge in 7 ccm der Kulturflüssigkeit	der sterilen Nährlösung
Zuckerfrei	völlig klar	0,40	0,45
+ Glycerin	sehr schwache Trübung	0,55	0,40
+ Mannit	mäßig starke Trübung	0,90	0,42
+ Milchzucker	desgl.	1,10	0,47
+ Rohrzucker	desgl.	1,15	0,40
+ Maltose	desgl.	1,35	0,45
+ Traubenzucker	starke Trübung	1,80	0,40
Entzuckerte Bouillon	Nach 14-tägigem Verweilen der Röhrchen im Thermostaten bei 34°		
Zuckerfrei	klar	0,68	0,63
+ Glycerin	minimale Trübung	0,80	0,60
+ Arabinose	desgl.	0,90	0,80
+ Rohrzucker	sehr starker Bodensatz	3,60	0,60
+ Traubenzucker	desgl.	3,90	0,65
Entzuckerte Bouillon	Nach 14-tägigem Verweilen der Röhrchen im Thermostaten bei 30°		
Zuckerfrei	völlig klar	0,33	0,38
+ Glycerin	desgl.	0,33	0,40
+ Mannit	mäßig starker Bodensatz	1,43	0,38
+ Rohrzucker	Trübung und starker Bodensatz	2,85	0,38
+ Maltose	starker Bodensatz	2,95	0,40
+ Milchzucker	desgl.	2,00	0,40
+ Traubenzucker	sehr starker Bodensatz	3,50	

Bacterium pabuli acidi I Weiß.

Nährsalzlösung + 1 Proz. Pepton	Nach 25-tägigem Verweilen der Röhrchen im Thermostaten bei 30°		
Zuckerfrei	völlig klar	0,48	0,45
+ Glycerin	minimale Trübung	0,52	0,40
+ Mannit	mäßig starke Trübung	0,85	0,42
+ Maltose	schwache Trübung	0,75	0,45
+ Milchzucker	mäßig starker Bodensatz	1,25	0,47
+ Rohrzucker	desgl.	1,45	0,40
+ Traubenzucker	desgl.	1,65	0,40
Entzuckerte Bouillon	Nach 14-tägigem Verweilen der Röhrchen im Thermostaten bei 34°		
Zuckerfrei	minimaler Bodensatz [1])	0,65	0,63
+ Glycerin	desgl.	0,70	0,60
+ Rohrzucker	schwache Trübg., sehr stark. Bodens.	3,65	0,60
+ Traubenzucker	desgl.	4,00	0,65

1) Hier trat noch ein ganz geringes Wachstum in der zuckerfreien Bouillon ein; wahrscheinlich war noch eine Spur einer für diese Form vergärbaren C-Verbindung

Entzuckerte Bouillon	Nach 9-tägigem Verweilen der Röhrchen im Thermostaten bei 30°		
	Makroskopischer Befund an den Kulturflüssigkeiten	Acidität bestimmt durch Titration mit $\frac{N}{4}$-Natronlauge in 7 ccm	
		der Kulturflüssigkeit	der sterilen Nährlösung
Zuckerfrei	minimale Trübung [1])	0,35	0,38
+ Glycerin	schwache Trübung	0,70	0,40
+ Mannit	mäßig starker Bodensatz	1,20	0,38
+ Maltose	schwache Trübung, Bodensatz	1,20	0,40
+ Milchzucker	schwache Trübung, starker Bodensatz	2,70	0,40
+ Rohrzucker	Trübung, starker Bodensatz	2,65	0,38
+ Traubenzucker	schwache Trüb., sehr stark. Bodensatz	3,20	

Bacterium pab. ac. I Weiß; anderer Kulturstamm.

Nährsalzlösung + 1 Proz. Pepton	Nach 25-tägigem Verweilen der Röhrchen im Thermostaten bei 30°		
+ Rohrzucker	starker Bodensatz	2,50	0,40
+ Traubenzucker	desgl.	1,85	0,40

Entzuckerte Bouillon	Nach 20-tägigem Verweilen des Röhrchens im Thermostaten bei 30°		
+ Rohrzucker	sehr starker Bodensatz	3,50	0,38

Säure bildet als in Maltoselösung, Bact. pab. acidi II Weiß dagegen in Maltoselösung mehr als in Milchzuckerlösung, was ebenfalls auch Weiß beobachtet hat. Dementsprechend bringt, wie wir gesehen haben, Bact. pab. I sterile Milch etwas rascher zum Gerinnen als Bact. pab. ac. II. Beide koagulieren aber die Milch erheblich langsamer als unsere Käsebakterien.

An Stoffwechselprodukten bilden die beiden Rübenschnitzelbakterien beim Wachstume in Milch nach Weiß hauptsächlich rechtsdrehende Milchsäure; Bact. pab. ac. II überdies noch etwas Essigsäure.

Wenn man nun hiernach die beiden Schnitzelbakterien nicht mit Sicherheit untereinander und noch weniger mit unseren Käsebakterien zu identifizieren vermag, so kann es doch nicht zweifelhaft sein, daß unter diesen Organismen eine sehr enge Verwandtschaft besteht.

---

vorhanden. Als die Kulturflüssigkeit, von neuem geklärt und sterilisiert, mit dieser Bakterienform infiziert wurde, blieb sie, bei 34° gehalten, dauernd klar, während in einer anderen Portion eben dieser Flüssigkeit, die mit Traubenzucker versetzt und mit dem Bakterium infiziert war, eine üppige Vermehrung desselben erfolgte.

(Schluß folgt.)

Bakteriologische Studien über die Produkte des normalen Zuckerfabriksbetriebes.

[Aus der k. k. allgemeinen Untersuchungsanstalt für Lebensmittel und aus dem hygienischen Institute des Prof. G. Kabrhel in Prag.]

Von **Ottokar Laxa**, k. k. Assistent an der k. k. Untersuchungsanstalt.

Mit einer Figur.

Mit den Forschungen auf dem Gebiete der Bakteriologie der Zuckerfabriksprodukte hat man erst dann systematisch begonnen, als in dem Betriebe Abnormitäten eingetreten sind, resp. die diversen Produkte andere Beschaffenheit als die normale gezeigt haben.

Es liegt klar zu Tage, daß, wenn die Resultate der Untersuchung der betreffenden Produkte bei den Forschungen entsprechende Würdigung und Erklärung finden sollen, die Säfte aus diversen Stationen während des normalen Ganges des Betriebes genommen und näher beleuchtet werden müssen, schon aus dem Grunde, weil es sich in der Regel um komplizierte Verhältnisse handelt.

In Würdigung des mangelnden Studiums in dieser Richtung stellte ich mir die Aufgabe, diese Frage möglichst systematisch zu lösen und zu diesem Zwecke befaßte ich mich mit der bakteriologischen Untersuchung der Fabrikate zweier Zuckerfabriken während der vorjährigen Kampagne.

Die Muster sind unter bakteriologischen Kautelen in sterilisierte Eprouvetten genommen und spätestens nach Verlauf von 2 Stunden zum Plattengießen verarbeitet worden.

Zur Isolierung der Mikroben aus den Diffusionssäften ist außer dem Glycerinagar auch Rübensaftagar mit Erfolg verwendet worden, nachdem viele hier vertretene Organismen auf dem vorgenannten Agar nicht zur Entwickelung kamen.

Die Züchtung geschah im Thermostaten bei 37° C.

Bevor ich zur Schilderung meiner Beobachtungen übergehe, mögen hier einige Daten aus der Litteratur Raum finden, die sich auf das Vorhandensein von Mikroben in Zuckersäften beziehen.

Mit Rücksicht auf die Diffusion gab Fischmann[1]) an, daß bei seinen Beobachtungen auf das Vorhandensein der Mikroben geschlossen werden könnte und schrieb diesen die Bildung von Gasen und Invertzucker während der Diffusionsperiode zu. Das Gas sammelte er in einem Gasometer und bestimmte in demselben die Kohlensäure. Die Gasmenge bei einer Diffuseurfüllung von 40 Ctr. schwankte von 58 bis 59 l und das Gas enthielt 9,5—19,4 Proz. CO_2, also per Diffuseur 8,46—17,46 l CO_2. Nach Zusatz von Karbolsäure bemerkte Fischmann, daß die Gas- und Invertbildung in den Diffusionssäften sich verminderte.

Jesser hatte Bedenken, daß in der Diffusionsbatterie der Invert

1) Zeitschrift des Vereins für Rübenzuckerindustrie des Deutschen Reichs. Bd. XXI. p. 301.

einer Mikrobenwirkung entspringen könnte, da die Säfte eine hohe Temperatur erleiden müssen.

Demgegenüber bemerkt Julhiardt[1]) ganz treffend, daß bei einer Temperatur von 75° C die Mikroorganismen beim Diffusionsverfahren außer einer Hintanhaltung ihrer Vermehrung keinen weiteren Schaden erleiden dürften, sondern daß sie vielmehr nach dem Erkalten der Säfte zu wuchern beginnen und die Zersetzung herbeiführen. Zum Beweise des Vorhandenseins von Mikroben führt er an, daß die Diffusionssäfte nach einer gewissen Zeit mehr Invertzucker zeigen als der ausgepreßte Saft aus der Zuckerrübe.

Zur Erklärung jener von Zeit zu Zeit aufgetretenen Gärung in den Diffuseuren, bei welcher der Wasserstoff in vereinzelten Fällen Explosionen verursachte, griff Chevron[2]) zu der Annahme, daß die sauren Diffusionssäfte auf das Eisen einwirken, wodurch Wasserstoff erzeugt werde.

Anderer Meinung war Deherain[3]), nach dessen Ansicht diese Erscheinung von der Buttersäuregärung abhängig ist, eingeleitet durch das Vorhandensein von Bakterien, deren faktische Gegenwart er im Erdboden im Verein mit Maquenne auch bewiesen hatte. Als Beweis dieser Anschauung führen die erwähnten Autoren den folgenden Versuch an. Sie nahmen Zuckerlösung mit Zusatz von kohlensaurem Kalk und setzten hierzu ein kleines Quantum Erde und überließen diese Mischung der Wirkung einer Temperatur von 35—40° C. Nun trat eine lebhafte Gärung auf, wobei Kohlensäure und Wasserstoff sich verflüchtigten und in der vergorenen Flüssigkeit, Buttersäure und Essigsäure, etwas Propionsäure und Alkohol zurückblieb.

Den erwähnten Gärungsprozeß in der Diffusionsbatterie erklärte Deherain folgendermaßen.

Wenn wir die Thatsache erwägen, daß die Gärung bei angefrorener Rübe auftritt, nachdem die Rüben in diesem Zustande von der anhaftenden Erde schwer gereinigt werden können, so sehen wir, daß die die Gärung einleitenden Fermente in die Diffuseure durch die anhaftende Erde gelangen konnten.

Aus den oben angeführten Arbeiten erhellt ferner, daß man schon früher auf das Vorhandensein von Mikroben in den Diffusionssäften geschlossen hatte, der Beweis hierfür ist jedoch nicht beigebracht worden.

Zu Würdigung dieser Umstände unterwarf ich mehrere Proben der Diffusionssäfte, die ich dem Meßgefäße entnommen habe, der Untersuchung und gelangte zu den folgenden Resultaten.

Die angelegten Platten wiesen eine unzählige Menge von Kolonieen auf. Ich war selbst bei einer Verdünnung von 1 ccm Saft mit sterilisiertem Wasser auf ein Volumen von ca. 150 ccm nicht imstande, die Bakterienzahl in 1 ccm dieser verdünnten Flüssigkeit auf Zuckerrübenagar zu zählen.

---

1) Bull. chim. franç. 1897. p. 198, 804.

2) Zeitschrift des Vereins für Rübenzuckerindustrie des Deutschen Reichs. Bd. XXIII. p. 501.

3) Ebenda. Bd. XXXIV. p. 269.

Die Arten der Bakterien stimmten weder bei den Säften der einen noch der anderen Fabrik überein. Vorwiegend waren sporenbildende Arten vertreten.

In einer Zuckerfabrik konstatierte ich Kolonieen einer Hefe in größerer Menge und eine Woche später fand ich zahlreiche Kolonieen, hinwieder einige Milchsäurebakterien vor.

Das Vorkommen von Hefe bei diesen Temperaturen wirkt nicht überraschend, wenn wir bedenken, daß Artari[1]) in Zuckerfabriksprodukten sporenbildende Hefe vorfand, die er unter dem Namen Saccharomyces Zopfii beschrieben hat und die eine feuchte Temperatur von 67° C zu vertragen vermag.

In einem anderen Falle fand ich in den Diffusionssäften verschiedene Mikroben, ohne daß eine Art derselben vorherrschend gewesen wäre. Unter anderen fand ich oft den thermophilen Bacillus, den ich in diesem Centralblatt[2]) bereits beschrieben habe, den auch Poupě[3]) isoliert und beschrieben hatte und für den ich den Namen Clostridium gelatinosum vorschlage.

Aus den oben angeführten Untersuchungen geht ferner hervor, daß die Diffusionssäfte eine Unzahl von Mikroben aufweisen, deren Ursprung teils im Erdboden, teils in dem verwendeten Wasser zu suchen ist.

Die Zuckerrübe enthält auf ihrer Oberfläche, nachdem sie dem Boden entnommen worden ist, eine unzählige Mikrobenzahl, die ihren Ursprung im Erdboden hat, und thatsächlich weist das Wasser in dem Rüdiger und in der Waschmaschine eine große Menge von Mikroben auf.

Die anhaftenden Organismen kommen mit der Rübe in die Schneidemaschine, weiter mit den Schnitzeln in die Diffusionsbatterie.

Die Wucherung der Mikroben hört bereits bei einer Temperatur von 60—70° C (die thermophilen Arten könnten eine Ausnahme bilden) auf, hingegen überdauern die sporenbildenden Mikroben diese hohe Temperatur und, falls diese auf 30—40° C gesunken ist, beginnen dieselben zu wuchern und den Zucker zu zersetzen, indem die Zusammensetzung des Diffusionssaftes der Mikrobenwucherung Vorschub leistet.

Aus dem Angeführten erhellt die Thatsache, daß bei dem normalen Gange der Diffusion Verluste an Zucker nicht zu befürchten sind und zwar aus dem Grunde — vorausgesetzt nämlich, daß die Säfte hinreichend warm sind —, weil die Bakterien sporulieren und somit den Zucker nicht beeinflussen.

Anders verhält sich die Sache bei einer Störung des Betriebes, wo die Säfte längere Zeit in der Diffusionsbatterie sich aufhalten müssen und dabei die Temperatur naturgemäß gesunken ist.

In eine weitere Phase tritt die Zuckerfabrikation durch die Mischung der Diffusionssäfte mit Kalk und die Saturation. Die Mikroorganismen begegnen hier zweierlei Arten von Hindernissen,

1) Abhandl. d. naturw. Ges. zu Halle. Bd. XXI.
2) Bd. IV. p. 362. — České listy cukrovarské. Bd. XXII. p. 213.
3) Centralbl. f. Bakt. etc. Ref. Bd. IV. p. 484.

und zwar einerseits von Seite der Aetzmittel und andererseits von der hohen Temperatur.

Unter diesen Verhältnissen sollte man glauben, daß bei Einwirkung obiger Einflüsse die Mikroben zu Grunde gehen werden.

Es ist bekannt, daß durch hohe, feuchte Temperaturen auch die widerstandsfähigsten Sporen im Laufe von einigen Minuten zu Grunde gehen. Die Vernichtung derselben ist um so mehr zu erwarten, als der gleichzeitig erfolgende Zusatz von 3 Proz. Kalk eine vernichtende Wirkung selbst bei niedrigen Temperaturen zur Folge hat. Im Vereine mit hoher Temperatur ist die antiseptische Wirkung der chemischen Stoffe nur eine erhöhte.

Diese Annahme wird durch den bakteriologischen Versuch vollauf bestätigt.

Die aus den Pressen ausfließenden Säfte habe ich steril gefunden, wenn die Temperatur der Säfte nicht zu tief gesunken ist. Ist dies jedoch geschehen, so waren schon Clostridium-Keime vorhanden, und zwar bis 60 Kolonieen in 1 ccm des Filtersaftes der 3. Saturation.

Augenscheinlich ist der Ursprung derselben in der Berührung mit der Luft zu suchen, in welcher bekanntlich zahlreiche und verschiedenartige Mikroben verteilt sind. Auf den Umstand, daß unter diesen auch die Keime des Clostridium vertreten sein können, werde ich noch an einer anderen Stelle zurückkommen.

Was die Beschaffenheit des Dünnsaftes als Substrat für die Mikroben betrifft, so sei bemerkt, daß derselbe verschiedenen Organismen die zum Leben nötigen Stoffe bietet, namentlich gedeiht in demselben das Clostridium derartig, daß es die Konkurrenz mit anderen Organismen spielend bewältigt und dieselben überwuchert.

Als Beweis dessen kann das Nachstehende angeführt werden:

Bei schlecht gedichteten Schlammpressen, bei welchen die Säfte heruntertropfen, wobei sie abgekühlt werden, bilden dieselben feuchte Stellen und Pfützen auf den Tellern unter den Filtern und da begegnet man nicht selten einer weißlichen, gallertartigen Masse.

So fand ich in einer Zuckerfabrik Haufen dieser Gallerte bei dem dritten Filter vor dem Eintritte des Saftes in den Abdampfungsapparat.



Gallerte aus der Schlammpresse. Vergr. ca. 500.

Diese weißliche Masse unterzog ich der mikroskopischen Untersuchung. Das beigelegte Bild veranschaulich das mit Dahliaviolett gefärbte Präparat. Demgemäß bestand die Masse aus filzartig verflochtenen Fäden.

Bei der bakteriologischen Untersuchung der Masse auf Glycerinagarplatten gewann ich unzählige Kolonieen des Clostridium, nahezu in der reinsten Kultur.

Aus dem Angeführten erhellt, daß der Dünnsaft diesem Mikroben einen ganz ausgezeichneten Nährboden bietet, so daß dieser andere Organismen im Wachstume überflügelt.

Doch nicht nur der Dünnsaft, auch die verdünnte Melasse ist dem Clostridium ein vorzügliches Nährmedium, wie man an der Gallerte („Osmogenpilz", „Sulz") unter den Osmogenen, die oft in großen Massen sich entwickelt, beobachten kann.

Nachdem auch diese Gallerte dem bakteriologischen Studium unterworfen wurde, zeigte dieselbe Clostridium fast in der reinsten Kultur.

Mit Rücksicht auf die bisherigen Versuche ist es erklärlich, daß sich die Dünnsäfte beim Ausflusse aus den Schlammpressen so leicht mit Clostridium infizieren.

Die überhand genommene Mikrobengallerte trocknet aus und giebt dann reichlichen Impuls zur Bildung von Infektionen. Diese Organismen bilden nämlich leicht Sporen, die sich mit Staub in der ganzen Anlage verbreiten und, nachdem sie mit Säften von entsprechender Temperatur in Berührung gekommen sind, keimen und weiter wuchern.

Es ist interessant, daß sich gerade unter den Osmogenen die Gallerte in Kanälen des Osmogenwassers absetzt; offenbar geschieht dies aus dem Grunde, weil das Osmogenwasser mehr Nichtzucker enthält, welcher diesem Organismus förderlicher ist.

Die auf diese Weise entstandenen Gallerten sind schon längst bekannt, namentlich kannte man sie zu der Zeit, wo man noch mit hydraulischen Pressen gearbeitet hat, wobei sich der sogenannte „Froschlaich", „Rübengummi" anzusammeln pflegte. Dort, wo der kalte Saft mit der Luft in Berührung kam, entstand diese Masse in einer solchen Menge, daß man sie täglich abräumen mußte.

Scheibler und Felz hielten sie für ausgeschiedenes Rübenplasma.

Dieser Anschauung trat Jubert entgegen, indem er nachwies, daß diese Masse gärt, wächst und durch Karbol getötet wird, daher ein lebender Organismus sein muß.

Erst Cienkowski wies nach, daß diese Gallerte aus Bakterien besteht, deren Membranen gequollen sind, und schrieb diesen Mikroben die verschiedenen Formen zu. Van Tieghem fand in seinem Falle bloß Kugelbakterien und nannte sie Leuconostoc mesenterioides. Dieser Organismus ist bakteriologisch in Reinkultur erst durch Liesenberg und Zopf erforscht worden.

Leuconostoc bildet die Gallerte durch die Aufquellung seiner Kapseln; einen ähnlichen Mikroben beschrieben auch Koch und Hoseaus, das Bacterium pediculatum, das sie in Syrup vorgefunden haben, der zur Verarbeitung eines weiteren Produktes bestimmt worden war. Die Membran dieses Bakteriums zeichnet sich besonders durch eine einseitige Anschwellung aus.

Weiterhin isolierte Glaser[1]) aus Rübensaft einen Mikroben, der bei seinem Wachstume Gallerte gebildet hat. Ob diese Masse ein Mikrobenbestandteil oder ein Stoffwechselprodukt war, ist nicht angegeben worden. So weit man aus der kurzen Beschreibung urteilen kann, könnte man der Wirkung nach eventuell auf die Identität dieses Mikroben mit meinem Clostridium schließen.

1) Centralbl. f. Bakt. 2. Abt. Bd. I. p. 879.

Mit absoluter Bestimmtheit kann man jedoch die Identität schon deshalb nicht bestimmen, weil die Daten über das erstgenannte Bacterium gelatinosum betae ganz unzureichend sind.

Was die Untersuchungen Jubert's betrifft, kann bezweifelt werden, daß es sich bei denselben um Leuconostoc gehandelt hatte, mit welchem man nach dem Bekanntwerden des letzteren summarisch alle ähnlichen Erscheinungen zu erklären versuchte.

Jubert[1]) sagt nämlich, daß der Rübengummi bei 60° C wächst und giebt weiter an, daß bei der Zersetzung Kohlensäure gebildet wird und die gegorene Flüssigkeit nach Buttersäure riecht, sowie daß die Erwärmung auf 90° C erst nach Verlauf von $^1/_2$ Stunde die Gallerte tötet.

Demgegenüber kann angeführt werden, daß der Leuconostoc keine Buttersäure bildet und schon bei 88° C in 5 Minuten zu Grunde geht.

Das Clostridium gelatinosum hingegen bildet flüchtige Säuren und verträgt eine Temperatur von 90° C auf die Dauer einer halben Stunde, wodurch bewiesen wird, daß sich in Jubert's Beobachtungen nicht um Leuconostoc, sondern eher um das Clostridium gelatinosum gehandelt haben muß.

Es ist nicht unwahrscheinlich, daß auch Mendez[2]) beim Studium der Organismen, welche die Trübung der Aussüßungswasser der Spodiumfilter verursachen, mit diesen Mikroben zu thun gehabt hatte.

Zum mindesten ähnelt der Bacillus No. 6, den er beschrieben und abgebildet hat, den Fadenformen des Clostridiums, doch scheint es, daß derselbe nicht in Reinkultur isoliert war, nachdem er laut Abbildung einmal als Bacillus, das andere Mal als Coccus wächst.

Es ist überhaupt nicht uninteressant, daß, obwohl meine bakteriologischen Analysen zahlreiche Zuckerfabriksprodukte verschiedener Provenienz betreffen, ich niemals Leuconostoc vorgefunden habe, sondern vielmehr, ja sozusagen immer und oft in zahlreicher Menge das Clostridium vertreten fand.

Es fragt sich nun, wie die Mikroben in den weiteren Produkten vertreten sind.

Der Dünnsaft wird in der Verdampfungsstation verdickt.

In dem ersten Verdampfungskörper, in welchem der Saft unter Druck kocht, zeigte sich derselbe steril. In den nachfolgenden Körpern fand ich in einer Zuckerfabrik, wo das Triplesystem eingeführt ist, auch faktisch Mikroben vor. Sowohl im zweiten als auch im dritten Körper sind Keime des Clostridium nachgewiesen worden. Die konstatierte Zahl ergab auf 1 g des Dicksaftes 125 Keime.

Vom Standpunkte der Methodik sei bemerkt, daß vor der Entnahme der Proben der Saft einige Male abgelassen wurde, damit die etwa im Ablaßhahne befindlichen Keime entfernt werden.

1) Zeitschrift des Vereins für Rübenzuckerindustrie des Deutschen Reichs. Bd. XXV. p. 105.

2) Bull. de l'assoc. de chimistes. T. III. No. 3.

Trotzdem kann man aus dem Angeführten keine Folgerung ziehen, daß der Saft des Körpers nicht steril gewesen wäre, denn es ist denkbar, daß die nachgewiesenen Keime einer ungenügenden Reinigung des Ablaßhahnes zugeschrieben werden können; da in denselben Saftüberreste zurückbleiben, in welchen bei günstiger Temperatur ein Wachstum der Mikroben nicht ausgeschlossen ist.

Andererseits schließt die Safttemperatur des dritten Körpers von 72° C nicht die Möglichkeit aus, daß die etwa in dem Safte enthaltenen Sporen diese Wärme überstanden.

In dem auf diese Weise entstandenen Dicksafte haben die Organismen nicht nur einer höheren Temperatur, sondern auch der Konzentration der Zuckerlösung Widerstand zu leisten.

Bei der nachfolgenden Reinigung durch mechanische Filter kommt der Saft mit der Luft in Berührung; ist er heiß genug, so können wohl einzelne Keime, die durch die Luft dem Safte zugeführt worden sind, getötet werden, aber beim Erkalten desselben ist den Mikroben die Möglichkeit geboten, in Wucherung überzugehen.

Eine Zuckerfabrik bedient sich in ihrem Betriebe zweier mechanischer Filter, in welchen der Saft mit der Luft in Berührung kommt.

Der Saft im ersten Filter wies eine Wärme von nahe dem Siedepunkte auf und zeigte sich steril, während der Saft aus dem zweiten Filter bei einer Temperatur von 73° C unzählige Mikrobenkeime enthielt, und zwar außer Clostridium noch einen sporenbildenden Bacillus, der dem Bacillus subtilis ähnlich war.

Auch hier konnte also die Infektion und zwar durch die sporenbildenden Bakterien durch die Luft vermittelt worden sein.

Die nachfolgende Einkochung im Vacuum verhindert wohl das Wachstum der Mikroben, hat aber nicht die Tötung der Sporen zur Folge.

Zum Beweise dessen diene der Umstand, daß die genommenen Proben der soeben ausgelassenen Füllmasse in 1 g 71 Keime enthielten, von welchen 18 dem Clostridium zufielen.

Die abgelassene Füllmasse, weiterhin das erste Produkt sowie auch der Grünsyrup zeigten bei wiederholten Proben zahlreiche Keime, was schließlich natürlich erscheint, wenn wir bedenken, daß aus der Luft ständig neue Mikroben in den Syrup gelangen können.

Zur besseren Uebersicht ordnete ich die durch die bakteriologische Analyse gewonnenen Resultate und zwar der Proben einer Zuckerfabrik in nachfolgender Tabelle.

Es sei bemerkt, daß die Proben, abgesehen von den Nachprodukten, zu gleicher Zeit dem Betriebe entnommen worden sind.

Die Nachprodukte hingegen sind eine Woche später genommen und analysiert worden.

Die festen Produkte als auch die Syrupe sind in mit Wata verschlossenen sterilen Eprouvetten gewogen und nach Entleerung derselben (natürlich bei Benutzung der entsprechenden bakteriologischen Kautelen) wieder gewogen worden, damit aus der Differenz der Gewichte die Menge der zur Analyse benutzten Stoffe bestimmt werden könne.

Die Entleerung der Eprouvetten geschah in steriles Wasser von bekanntem Volumen und zwar wurden die Platten aus 1 ccm (oder weniger) der verdünnten und geschüttelten Lösung gegossen.

Weiter sei bemerkt, daß als Clostridium bloß die typischen moosartigen Kolonieen angesehen worden sind, während kleine, namentlich im Inneren des Agars sich befindliche Kolonieen nicht gut identifiziert werden konnten. Mit Rücksicht auf diesen Umstand ist es nahezu gewiß, daß in der Wirklichkeit auf das Clostridium eine größere Zahl der Keime entfiel, als in der Tabelle angeführt ist.

1 ccm resp. 1 g enthielt	Keime	Keime von Clostridium
Diffusionssaft	bei einer Verdünnung 1 ccm auf das Volumen 150 ccm mittels sterilen Wassers, sind aus 1 ccm dieser verdünnten Lösung unzählige Keime hervorgewachsen	nicht bestimmt
Dünnsaft nach I. Saturation	steril	steril
„ „ II. „	„	„
„ „ III. „	„	„
Saft aus I. Verdampfungsapparat	„	„
„ „ II. „	„	„
„ „ III. „	„	„
„ „ I. mechanischem Filter	„	„
„ „ II. „ „	unzählige	nicht bestimmt
Dicksaft aus dem Reservoir	75	75
Probe aus dem Vacuum	210	52
Füllmasse	206	137
I. Produkt	unzählige	306
Grüner Syrup	548	479
Eingekochter Syrup	1992	664
II. Produkt	3388	821
II. Ausgeschleuderter Syrup	unzählige	909
II. Eingekochter Syrup	„	1167

Die Keimzählung geschah am 3. Tage nach der Injektion. Dies war in einigen Fällen schwer auszuführen, weil das Kondensationswasser aus dem Agar, den Mikroben Oberflächenwachstum ermöglicht.

Wie aus der Tabelle hervorgeht, steigt die Anzahl der Mikroben von 73 ° C (im Safte des 2. mechanischen Filters) wesentlich an, wovon die meisten Keime dem Clostridium angehören.

Diesen Mikroorganismus findet man in den Zuckerfabrikprodukten nahezu konstant vor; außer ihm fand sich noch ein Bacillus vor, der dem Heubacillus ähnlich ist, nebst zufälligen anderen Mikroben. Aus einem Syrupmuster wurde sogar eine Cladothrix isoliert.

Die wachsende Zahl der Keime ist in den nachfolgenden Momenten begründet:

1) im Einkochen, wodurch die Wassermenge verringert und die Sporenzahl daher relativ vergrößert wird;

2) im Einfallen von neuen Keimen aus der Luft in die Syrupe und andere Produkte;

3) in der Vermehrung der Mikroben in den erkalteten Produkten.

In diesem Zustande sind sogar die Sporen nichtbildender Arten in ihrem Wachstume begünstigt.

Als Beispiel diene hier ein bei mäßiger Temperatur ausgeschleuderter eingekochter zweiter Syrup, ferner das daraus resultierende dritte Produkt und schließlich der Syrup selbst.

1 g des II. Syrups enthielt	35800 Keime
1 g „ III. ausgeschleudertes Produkts	39500 „
1 g „ III. Syrups	88100 „

Es ist nicht uninteressant, daß diese Keime hauptsächlich aus einer Sarcineart bestanden.

Es fragt sich nun, ob die Gegenwart der Mikroben und ihr mögliches Wachstum nicht mit der Inversion der Saccharose verbunden ist.

Es ist zwar die Steigerung des Inverts namentlich in den Melassen und dem Rohrzucker bekannt, doch diese Erscheinung harrt noch ihrer Erklärung. Es ist von zahlreichen Bakterien entschieden nachgewiesen worden, daß sie eine invertierende Wirkung besitzen und zu diesen Arten ist nun auch Clostridium gelatinosum zu rechnen, welches gleichfalls mit diesen Eigenschaften begabt ist, worauf ich auch schon in einer früheren Arbeit hingewiesen habe.

Nachdem nun dieser Mikrobe in den Säften stark vertreten ist und in Wucherung übergeht, so kann derselbe mit einer gewissen Wahrscheinlichkeit mit dem Gange der Inversion der Zuckerfabriksprodukte in Verbindung gebracht werden.

Zum Schlusse soll noch der Schaumgärung Erwähnung gethan werden.

Die Ansicht, nach welcher der Grund dieser Erscheinung in der chemischen Zersetzung labiler organischer Verbindungen seine Erklärung findet, scheint bei näherer Untersuchung der einzelnen Fälle keine vollständige Lösung der Frage zu bilden.

Ich habe in diesem Centralblatte[1]) bereits Gelegenheit gehabt, einige Erscheinungen in dieser Richtung hin näher zu behandeln.

Doch damals kam mir, wie schon in der oben citierten Publikation seiner Zeit bemerkt wurde, Material aus einer unechten Schaumgärung zu. Im vorliegenden Falle handelte es sich um Schleimgärung, die mit Gasbildung verbunden war, die in der Praxis unrichtig als Schaum benannt wird.

In Bezug auf diesen Umstand ist es einleuchtend, daß die betreffenden Studien über den thermophilen Bacillus, die sich zwar auf bestimmte abnorme Vorgänge in den Säften beziehen, mit der Schaumgärung, wie schon Claasen[2]) darauf aufmerksam gemacht hatte, nicht gut in Einklang zu bringen sind.

Gleichzeitig muß auf gewisse Umstände hingewiesen werden, die genügend beweisen, daß unter der Bezeichnung „Schaumgärung“ in der Praxis nicht immer derselbe Vorgang verstanden wird.

Diesbezüglich kann ich einerseits auf die Claasen'sche Angabe, nach welcher die Schaumgärung erst bei einer Temperatur von 80°

---

1) S. oben.
2) Centralbl. f. Zuckerindustrie der Welt. Bd. VI. 1898. p. 485.

und mehr sich eingestellt hatte, hinweisen, andererseits auf Mitteilungen anderer erfahrener Fachleute, die mir zugekommen sind, nach welchen die Schaumgärung erst nach dem Erkalten der eingekochten Syrupe eingetreten ist.

Aus diesen Angaben geht hervor, daß die Schaumgärung nicht das Produkt einer und derselben Ursache zu sein braucht. Es ist gleichfalls evident, daß im Falle der absoluten Richtigkeit der chemischen Hypothese einzelne Befunde Herzfeld's[1]), nach welchen durch Karbolzusatz die Temperatur und das Schäumen verringert wurde, ihre Erklärung finden. Weiter führt Grundmann[2]) an, daß das Ausräuchern mit der Aldehydlampe ganz zufriedenstellende Resultate ergeben hat.

Diese Beobachtungen lassen sich einzig durch die Fermentationshypothese erklären.

Es sei schließlich noch erwähnt, daß es thermogene Bakterien giebt, die bei ihrer Vermehrung und Wucherung Impulse zu weitreichenden Zersetzungen geben, bei denen Wärme entwickelt wird.

In diesem Falle erzeugen die Bakterien im Nährsubstrate chemische Verbindungen, die die Eigenschaft besitzen, sich energisch zu oxydieren. Den weiteren Verlauf, nämlich die intensivste Oxydation und die damit verbundene Temperatursteigerung bis zur Flammenbildung und die gleichzeitige Vernichtung der Mikroben, die den Impuls zur obigen Erscheinung gegeben haben, kann man mit positiver Gewißheit als Prozesse rein chemischer Natur erklären.

Daraus geht weiterhin klar hervor, daß die Mikroben, die den Impuls zu den Zersetzungen und in der Folge auch zur Flammenbildung gegeben haben, weder zu wuchern noch jene Temperatur zu vertragen brauchen, die den Kulminationspunkt des Prozesses bewirkt hat.

Dies erklärt zur Genüge die Selbstentzündlichkeit der Baumwolle, des Hopfens und des Heues.

Prag, den 20. Januar 1900.

Referate.

Ramann, E., Remelé, C., Schellhorn und Krause, Max, Anzahl und Bedeutung der niederen Organismen in Wald- und Moorböden. (Zeitschr. f. Forst- u. Jagdwesen. Jahrg. XXXI. Heft 10. p. 575—606.)

Wohl weiß man, daß in Waldböden verhältnismäßig viele Hyphomyceten vorkommen, über die Verteilung der Bakterien und Pilze in den verschiedenen Tiefen des Bodens und in den verschiedenen Bodenarten ist jedoch noch wenig bekannt. Es ist daher interessant,

---

1) Zeitschrift des Vereins für Rübenzuckerindustrie des Deutschen Reichs. Bd. XL. p. 263.

2) Centralbl. f. Zuckerindustrie der Welt. 1898. p. 578.

einmal etwas weiteres über die Zahl von Bakterien und Fadenpilzen in verschiedenen Waldböden, ihr Zahlenverhältnis untereinander und ihre Beziehungen zu den verschiedenen Faktoren des Bodens, wie Wassergehalt, Porosität, Gehalt an Humussäure etc. zu erfahren.

Zur Untersuchung kamen 14 Böden aus der Gegend von Eberswalde, davon gehörten 8 dem Walde, 3 dem Hochmoore und 3 dem Grünlandsmoore an.

Im Kiefernbestand ohne resp. mit Buchenunterholz verhielten sich in der locker aufliegenden Streu die Bakterien zu den Fadenpilzen wie 100 : 0,1, im Rohhumus wie 100 : 20, im Mullboden wie 100 : 171, Boden unter dem Rohhumus 100 : 251. Der Säuregehalt der Streu, mit 0 angesetzt, betrug im Rohhumus 0,653—0,982 Proz., im Mullboden 0,251 Proz. und im Boden unter dem Rohhumus 0,007 Proz. Betrachtet man die gefundenen Zahlen, so fällt besonders auf das Sinken derselben im Rohhumus und dem Boden unter ihm.

In Kiefernaltholz mit Moos- und Flechtendecke (a) und einer dicht benachbarten 20-jährigen Schonung mit dicker Moosdecke (b) war das Verhältnis: Rohhumus a = 100 : 373; b = 100 : 200; Boden a = 100 : 399, b = 100 : 302. Humussäuren im Rohhumus a 0,579 Proz., im Boden 0,005 Proz.; b Rohhumus 0,160 Proz., Boden 0,016 Proz.

Um den Unterschied bei gleichen sonstigen Bedingungen in beschatteter und besonnter Lage festzustellen, werden 2 Proben aufgeführt, die zeigen, daß in den besonnten Lagen die Zahl der Bakterien im Verhältnis zu der Zahl der Fadenpilze ganz erheblich sinkt. Ganz ähnlich ist das Verhältnis auch beim Vergleiche von Kiefernstangenholz und völlig geschlossenem Altbestande mit Buchenunterholz.

Auch härtere und lockerere Stellen verhalten sich verschieden. Dies zeigt z. B. Probe 6a und b. Der Untergrund ist ein kalkreicher, nicht sauer reagierender Boden, dessen Porenvolumen bei a 53,93 Proz., bei b 58,79 Proz. beträgt. In der Streu ist das Verhältnis 100 : 1,4 resp. 100 : 1,0, im Boden 1 : 3,31 resp. 1 : 1,32. Besonders auffallend ist hier auch, daß in einem neutralen Boden die Fadenpilze so außerordentlich die Bakterien überwiegen.

Unter Eiche, Fichte und Kiefer wurden ebenfalls vergleichende Versuche angestellt, dieselben ergaben in der Streu bei Eiche ein Verhältnis von 100 : 21, bei Fichte von 100 : 357 und bei Kiefer von 100 : 97.

Die Frage, ob in den tieferen Schichten der Hochmoore eine nennenswerte Flora vorhanden ist, ist leider durch die vorliegenden Untersuchungen nicht gelöst worden, auf der Oberfläche natürlich ist ziemlich reichliche Vegetation an niederen Pilzen. Im Grünlandsmoore dagegen ist ein auffallend niederer Gehalt an Organismen, doch nimmt derselbe bei besserer Durchlüftung zu.

Im allgemeinen kann man sagen, daß das Verhältnis der Häufigkeit von Bakterien und Schimmelpilzen beeinflußt wird durch die Reaktion des Bodens. Sauere Böden zeigen eine höhere Zahl an Hyphomyceten, neutrale und alkalische Böden an Bakterien. Immer-

hin treten auch in saueren Böden Bakterien auf und es scheint, als ob hier die gewöhnlichen Fäulnisbakterien des Bodens durch andere Arten ersetzt würden.

Die Humussäuren, die die sauere Reaktion des Bodens bedingen, scheinen durch die Thätigkeit niederer Organismen zu entstehen, auch gut durchlüftete Mullböden enthalten manchmal große Mengen. Die bisherige Annahme, daß Regenwürmer durch die Säuren des Bodens geschädigt würden, ist nicht richtig; die Verff. wiesen experimentell nach, daß diese Tiere wochenlang selbst in stark saueren Böden zu leben vermögen. Das für den Boden ungünstige Verschwinden der Regenwürmer läßt sich im allgemeinen auf vorübergehende Austrocknung zurückführen, die ganz allgemein ungünstig auf die Zersetzung des Bodens einwirkt. Appel (Charlottenburg).

Knauthe, Karl, Beobachtungen über den Gasgehalt der Gewässer im Winter. (Sep.-Abdr. aus Biol. Centralbl. Bd. XIX. 1899. No. 23/24. p. 783—799.)

Die Untersuchungen wurden an einem Dorfteiche in Sammenthin in der Mark Brandenburg angestellt, dessen Plankton zugleich näher studiert wurde.

Die reichlich in dem Teiche vorhandene Magnesia und Phosphorsäure wurden in dem Maße verbraucht, als Daphnien und Flagellaten zunahmen. Die Konzentration der einmündenden Wässer ist natürlich für die Verteilung der Organismen nicht ohne Einfluß.

Bei einem Schneegestöber verschwanden die grünen Euglenen von der Oberfläche und sanken (50 cm tief) auf den Boden des Teiches. Verf. läßt es unentschieden, ob dieses Sinken der sonst lichtbedürftigen Euglenen durch Strömungen verursacht wurde. Auch die Crustaceen sanken unter.

Bei Mondschein ($= \frac{1}{600000}$ des Sonnenlichtes) kamen die Euglenen aus dem Schatten der Gebäude hervor, was insofern von Interesse ist, als bei so schwacher Beleuchtung meist keine Assimilation mehr stattfindet.

Wenn man Wasser mit Luft schüttelt, werden höchstens ca. 2 Vol.-Proz. Sauerstoff aufgenommen. Verf. stellte fest, daß durch grüne Mikroorganismen der Sauerstoffgehalt auf 4—5 Proz. steigen kann.

Die Wuhnen, welche in das Eis geschlagen werden, sind nicht allein dadurch wichtig, daß sie das Grubengas entweichen lassen und Sauerstoff durch Diffusion Durchtritt gewähren, sondern auch durch den Einfluß, welchen sie auf die sauerstofferzeugenden Organismen üben. Kolkwitz (Berlin).

Zierler, Franz, Ueber die Beziehung des Bacillus implexus Zimmerman zum Bacillus subtilis Cohn. Ein Beitrag zur Lehre von der Variabilität der Spaltpilze. [Aus dem hygienischen Institute in Würzburg.] (Arch. f. Hyg. Bd. XXXIV. 1899. p. 192.)

In dem Lehrbuche der speziellen bakteriologischen Diagnostik (1895) geben Lehmann und Neumann (p. 294) an, daß Bac.

implexus Zimmermann sich vom Bac. subtilis nur durch seine Unbeweglichkeit unterscheiden läßt. Böttcher konnte dagegen (im Jahre 1897) bei dem der Stammkultur des Instituts entnommenen Bac. implexus zeitweilige Beweglichkeit beobachten. Verf. hat beide Species einer sorgfältigen vergleichenden Untersuchung unterworfen und findet, daß erstens dieselben einige (wenn auch geringe) kulturelle Unterschiede aufweisen und zweitens, daß die (ohne Verunreinigung aus dem ursprünglichen Stamme hervorgegangenen) Kulturen des Bac. implexus auf allen Nährböden und in jedem Alter konstante Beweglichkeit besitzen. Verf. hält es demnach für erwiesen, daß in diesem Falle eine früher unbewegliche Bacillenart im Laufe der Zeit Eigenbewegung erlangt habe. Ob damit eine Ueberführung des Bac. implexus in den Bac. subtilis bewiesen sei, läßt der Verf. unentschieden. (Leider giebt der Verf. nichts darüber an, ob und mit welchem Resultate eine Geißelfärbung unternommen wurde. Ref.) G. Ritter (Moskau).

Lehmann, K. B., Einige Bemerkungen zur Geißelfrage. Nachschrift zu vorstehender Arbeit des Herrn Zierler. (Arch. f. Hyg. Bd. XXXIV. 1899. p. 198.)

Verf. betont, daß die im vorstehenden Referate erwähnten (und von ihm kontrollierten) Thatsachen den ersten einwandsfreien Beweis für die Umwandlung einer unbeweglichen Bakterienart in eine bewegliche enthalten und erinnert zugleich an analoge (im Atlas von Lehmann und Neumann mitgeteilte) Beobachtungen über das entgegengesetzte Verhalten von Microc. agilis Ali Cohen und Microc. citreus agilis Menge, welche nach längerer Kultur Eigenbewegung und Geißelbildung verlieren. G. Ritter (Moskau).

Wortmann, J., Untersuchungen über das Umschlagen der Weine. (Sep. aus Weinbau und Weinhandel. 1899.)

Die Ursachen des Trübwerdens der Weine können außerordentlich verschieden sein. Entweder handelt es sich um Trübungen durch Organismen (Hefe u. a.) oder durch Gebilde nicht organisierter Natur. Eine Trübung der letzteren Art, die in Flaschenweinen (Weißweinen) beobachtet wurde, behandelt Wortmann. Die Weine kamen glanzhell auf die Flasche, schlugen aber nach kürzerer oder längerer Zeit auf dem Lager um. Die Trübung wurde hervorgebracht durch kleinste eckige Körnchen und Körperchen im Zustande lebhafter Molekularbewegung. Eine genauere Durchmusterung des Trubes gestattete den Schluß, daß es sich um Inhaltskörperchen der Hefezellen und Degenerationsprodukte des Hefeplasmas handelte, indem alle Uebergänge zwischen intakten Hefezellen, solchen mit kontrahiertem, körnigem Plasma und solchen, deren Wand aufgelöst war, beobachtet wurden. Die Körnchen, welche die feine, schleierartige Trübung des Weines, in dem sie suspendiert waren, verursachten, waren identisch mit den Plasmakörnchen toter Hefezellen. Worauf es beruht, daß in einem Weine die Hefezellen absterben, ohne daß ihre Membran gelöst wird und ihr Inhalt den Wein trübt, und daß im anderen diese Membranlösung eintritt, blieb unaufgeklärt.

Mit Schönen lassen sich solche Weine nicht heilen, dagegen durch Umgären. Sicher vorgebeugt wird dem Uebel, wenn dafür Sorge getragen wird, nur vollständig vergorene Weine, die hefearm sind und hefearm bleiben, auf die Flasche zu bringen.

Verf. weist noch darauf hin, daß bei trüben Weinen nur die mikroskopische Untersuchung des Trubes Aufklärung über die beste Art und Weise, den Wein wieder klar zu machen, verschaffen kann.

Behrens (Karlsruhe).

Zimmermann, A., Het voorkomen van nematoden in de wortels van sirih en thee. (Korte Berichten uit 'SLands Plantentuin. Teysmannia. 1899.)

Zimmermann fand bei einer als „omo lijer“ bekannten, ziemlich stark auftretenden Krankheit von Betelpfeffer, dessen Blätter zunächst welken, worauf dann die Pflanzen absterben, an den Wurzeln zahlreiche Anschwellungen, in welchen ausgewachsene, mit Eiern erfüllte Nematoden sich befanden. Dieselben stehen der Heterodera radicicola Greef. jedenfalls sehr nahe, wenn sie nicht überhaupt zu dieser Art gehören, was fernere Untersuchungen entscheiden müssen. Die Maße der Eier, Larven, Mundstacheln u. s. f. weichen etwas ab von der für Heterodera radicicola angegebenen. Der Anbau von Betelpfeffer ist an den verseuchten Stellen zunächst auszusetzen.

In einer Theepflanzung trat ein Verdorren und Absterben der Blätter an den jungen, $^1/_4$—$^1/_2$ Fuß hohen Pflanzen auf. Als Ursache ergab sich auch hier eine Erkrankung der Wurzeln, die mehr oder minder verfault waren. An noch nicht ganz abgestorbenen fanden sich braune Flecken, die am Rande allmählich in gesundes Gewebe übergingen und in ihnen eine vom Verf. schon in kranken Kaffeewurzeln gefundene und hier sicher parasitische Nematode, Tylenchus acutocaudatus Zimmermann. Daß sie auch die Theekrankheit verursacht hat, ist mindestens sehr wahrscheinlich. Wie der Schädling in die Pflanzung gekommen ist, blieb unbekannt. Früher war an der Stelle eine Kaffeeplantage.

Behrens (Karlsruhe).

Smith, Erwin F., Wilt disease of cotton, watermelon and cowpea. (U. S. Dep. Agriculture. Div. Veg. Physiology and Pathology. Bull. No. 17. 1899.)

Verf. beschreibt einen Pilz, welcher auf Baumwolle, Wassermelonen und Vigna sinensis, wahrscheinlich auch auf Hibiscus esculentus vorkommt. Derselbe verursacht Welkwerden der betroffenen Pflanzen. Er gehört einer neuen Gattung an, welche Verf. Neocosmospora nennt.

Die korallenroten Perithecien kommen auf den Wurzeln der erkrankten Pflanzen oder in der Erde vor. Es gelang Verf., dieselben aus Askosporen sowie aus Mikroconidien zu ziehen. Er hebt hervor, daß dies erst das zweite Mal sei, daß man Perithecien aus Mikroconidien der Hypocreaceae gezogen habe. Die Mikro- und Makroconidien werden darauf ausführlich beschrieben.

Der Einfluß auf 1) die Bildung eines Stromas, 2) die Farbe des Mycels, 3) die Farbe der Perithecien, 4) die Bildung der Perithecien, welcher einer Veränderung des Substrates zuzuschreiben ist, wird sodann besprochen. Aus der sehr großen Anzahl von Einzelbeobachtungen mögen einige hervorgehoben werden. Verf. findet, daß das Stroma manchmal vorhanden ist, dann wieder nicht, und meint, daß es als ein Teil des Pilzes zu betrachten ist, welcher sich am leichtesten den Verhältnissen anpaßt, und warnt davor, es bei anderen Pilzen als konstantes spezifisches Merkmal aufzufassen.

Das Mycel ist gewöhnlich weiß, wird aber auf verschiedenen Kulturböden rosa, rot, purpur oder braun. Verf. giebt dann eine große Anzahl Versuche mit verschiedenen Nährböden an. Er findet, daß der Pilz auf neutralen oder sauren Nährböden, wenn freier Sauerstoff vorhanden ist, und auf stärkehaltigen Nährböden wunderschöne Farben in den Nährböden hervorruft, so rosa, rot, purpur und violett. Wenn der Nährboden alkalisch gemacht wird, bleibt die Farbstoffbildung aus. Gelbe und braune Farben werden auf alkalischen Nährböden gebildet, aber in diesem Falle muß etwas Zucker vorhanden sein. Die Perithecien sind immer hellrot, der Farbstoff derselben ist zum Teil in Methylalkohol löslich, dagegen unlöslich in Aether, Chloroform, Benzin oder Schwefelkohlenstoff.

Auf stark alkalischen Nährböden bilden sich keine Perithecien. Verf. behielt Kulturen auf Agar (dem mehrere Tropfen Na_2CO_3 zugesetzt worden waren) 92 Tage, ohne daß irgendwelche Perithecien sich bildeten. Darauf wurde einer Kultur etwas Melonensäure zugesetzt und in 10 Tagen bildeten sich Tausende von Perithecien.

Der Pilz ist aërob. Er wächst jahraus jahrein in der Erde und kann im ausgetrockneten Zustande jahrelang verweilen. Er dringt in die unterirdischen Teile der Pflanzen ein und wächst in die Leitungsbahnen des Wassers, welche er in kurzer Zeit verstopft. Das Verstopfen hat den baldigen Tod der Pflanze zur Folge. Die Krankheitserscheinungen sind die einer rasch transpirierenden Pflanze, die mit nicht genug Wasser versorgt ist. Die Pflanzen welken zuerst, jüngere Pflanzen schneller als alte, und vertrocknen darauf rasch. Nach und nach wächst das Mycel nach außen und bildet Conidienpolster, welche in langen Reihen angeordnet sind.

Verf. beschreibt darauf eine große Reihe von Versuchen, in denen die Krankheit auf gesunde Pflanzen übertragen wurde. Dies geschah durch Einimpfen des Bodens mittels Sporen oder Mycel, welches aus Sporen gezogen worden war. Betreffs der Einzelversuche muß auf das Original verwiesen werden. Interessant ist, daß das Mycel, welches von einer Pflanzenart stammte, nicht imstande war, die Krankheitserscheinungen in den anderen Pflanzenarten hervorzurufen. Dasselbe gilt von dem Mycel, welches aus den Sporen, welche auf einer Pflanze gewachsen, hervorgegangen ist. Dasselbe verhält sich einer anderen Art gegenüber passiv. Verf. stellt daher die Frage, ob man es hier mit 3 Formen zu thun habe? Morphologisch sind sie nicht zu unterscheiden, doch liegt der Gedanke nahe, daß jede Form durch langes Wachstum auf einer Pflanze sich derselben physiologisch angepaßt habe.

Verf. bespricht einige nahe verwandte Krankheitserscheinungen sowie einige Maßregeln zur Bekämpfung des Pilzes. Eine Besprechung der systematischen Stellung des Pilzes folgt. Der letzte Teil handelt von den noch zu erforschenden Punkten. 10 Tafeln, wovon eine farbig ist, sind der Arbeit beigegeben. von Schrenk (St. Louis).

Entwickelungshemmung und Vernichtung der Bakterien etc.

Eckstein, K., Versuche über die Vertilgung der Nonne mit elektrischem Licht. (Zeitschr. f. Forst- u. Jagdwesen. Herausg. von Danckelmann. 1899. p. 668—672.)

Nachdem man die vielseitig angestellten Versuche, durch elektrische Lichtquellen die Nonnenfalter in einen mit Dampf betriebenen Ansaugeapparat zu locken, als erfolglos aufgegeben hatte, sind in den letzten Jahren, besonders auf Anregung des Grafen Heinrich von Pückler Proben mit einem in der Art abgeänderten Apparate vorgenommen worden, daß man ein vor dem Scheinwerfer ausgespanntes Gitter von Platindraht zum elektrischen Glühen brachte, damit die anfliegenden Schmetterlinge sich tödlich verletzen sollten. In der That gingen auch alle Falter, die das Licht erreichten, zu Grunde; die einen taumelten, wenig verletzt, zu Boden, die anderen verbrannten an den Drähten, viele waren sofort völlig verkohlt. Am reichlichsten war der Fang in den Stunden von 10—1 Uhr und zwar erhielt man in 27 Stunden zusammen 38000 Falter, unter denen zu 25 Proz. Weibchen waren. In denselben Beständen fingen und zählten 15 Frauen und 15 Kinder in 3 Tagen zusammen 64200 Nonnen mit 94 Proz. Weibchen. Die Kosten für den Maschinenbetrieb erforderten auf das Tausend Falter ca. 10 Mark, für das Sammeln durch Menschen 40 Pfennig! Für die Praxis des Forstschutzes weist E. diesen Versuchen folgende Bedeutung bei: 1) die technischen Schwierigkeiten sind nicht derart, daß es, wie vielfach behauptet wurde, zu den Unmöglichkeiten gehört, Scheinwerfer nebst Zubehör in den Wald zu schaffen; 2) die thatsächlich große Anziehungskraft, welche das elektrische Licht auf Insekten aller Art ausübt, vermag nicht die selbst in nächster Nähe befindlichen Nonnen mit Sicherheit anzulocken.

Arnold Jacobi (Berlin).

Wortmann, J., Zur Bekämpfung des Oïdium Tuckeri. (Mitteilungen über Weinbau und Kellerwirtschaft. 1900. No. 1. p. 1—6.)

Trotz der, besonders in den letzten Jahren, außerordentlichen Häufigkeit des Oïdium Tuckeri gehört dieser Pilz noch immer zu den in seinen Lebenserscheinungen wenig bekannten. Jeder Fortschritt in dieser Richtung ist aber von besonderer Bedeutung, da dadurch die Möglichkeit einer Bekämpfung größer wird.

Bisher hat man nicht genau gewußt, in welcher Weise der Pilz überwintert, die in Amerika und in den letzten Jahren in Frankreich

gefundenen Perithecien sind bei uns trotz eifrigen Suchens noch nicht aufgefunden worden, alle Beobachtungen deuten vielmehr darauf hin, daß die Ueberwinterung ohne Bildung von Perithecien bei uns stattfindet. Wortmann hat nun an einer ganzen Anzahl von Weinstöcken genaue Beobachtungen über das erste Auftreten des Pilzes gemacht und kommt zu dem Schlusse, daß der Pilz nur an verhältnismäßig wenigen Stellen überwintert, und zwar wahrscheinlich unter der Rinde. Diese infizieren sofort nach Laubausbruch die ihnen zunächst liegenden Triebe und diese erst bilden die eigentlichen Herde für die sich oft weit ausdehnende Verseuchung. Er glaubt daher, daß man dem bisherigen Gegenmittel des Schwefelns die genaue Beobachtung des ersten Auftretens der Erkrankung und Vernichtung der Primärherde mit Vorteil hinzufügen kann.

Appel (Charlottenburg).

Neue Litteratur,

zusammengestellt von

San.-Rat Dr. Arthur Würzburg,

Bibliothekar im Kaiserl. Gesundheitsamte in Berlin.

Allgemeines über Bakterien und Parasiten.

Brick, C., Bericht über die Thätigkeit der Station für Pflanzenschutz im Jahre 1898. (Stat. f. Pflanzenschutz in Hamburg I. 1898/99.) gr. 8⁰. 4 p. Hamburg 1899.

Fraenkel, E., Mikrophotographischer Atlas zum Studium der pathologischen Mykologie des Menschen. (In 2 Bdn.) 1. Bd. (In 5 Lfgn.) 1. Lfg. Tuberkelbacillus. gr. 8⁰. 9 Photogr. m. 22 p. Text. Hamburg (Lucas Gräfe & Sillem) 1900. 6 M.

Gamaleia, N., Elemente der allgemeinen Bakteriologie. gr. 8⁰. V, 242 p. Berlin (August Hirschwald) 1900. 7 M.

Untersuchungsmethoden, Instrumente u. s. w.

Hesse, W., Ein neuer Kulturgläserverschluß. (Centralbl. f. Bakteriol. etc. I. Abt. Bd. XXVII. 1900. No. 7/8. p. 258—259.)

Katz, J., Ein eigentümlicher Fall von Bewegung mikroskopisch kleiner Objekte, hervorgerufen durch Diffusionserscheinungen. (Ztschr. f. wissenschaftl. Mikrosk. Bd. XVI. 1900. Heft 4. p. 431—433.)

Ravenel, M. P., The making of agar-agar. (Journ. of the Boston soc. of med. scienc. Vol. IV. 1900. No. 4. p. 89.)

Ssobolew, L. W., Zur Technik der Safraninfärbung. (Ztschr. f. wissenschaftl. Mikrosk. Bd. XVI. 1900. Heft 4. p. 425—426.)

Wolff, E., Ueber Celloïdineinbettung und Färbung von Tuberkelbacillen in Celloïdinschnitten. (Ztschr. f. wissenschaftl. Mikrosk. Bd. XVI. 1900. Heft 4. p. 427—431.)

Wright, J. H., A simple method for anaërobic cultivation in fluid media. (Journ. of the Boston soc. of med. scienc. 1900. Jan. p. 119—120.)

Systematik, Morphologie und Biologie.

Albert, R. u. Buchner, E., Hefepreßsaft und Fällungsmittel. (Ber. d. dtsch. chem. Gesellsch. 1900. No. 2. p. 266—271.)

Bodin, E., Note additionnelle sur la forme oospora du microsporum du cheval. (Arch. de parasitol. T. II. 1899. No. 4. p. 606—609.)

Bokorny, Th., Ueber die Konzentrationsgrenzen der Nährstoffe für Pilzernährung. (Allg. Brauer- u. Hopfen-Ztg. 1900. No. 51. p. 553.)

Bourquelot, E. et Hérissey, H., Sur l'individualité de la „séminase", ferment soluble, sécrété par les graines de légumineuses à albumen corné en germination. (Compt. rend. de la soc. de biol. 1900. No. 5. p. 114—117.)

Cohn, L., Zur Systematik der Vogeltänien. IV. (Centralbl. f. Bakteriol. etc. I. Abt. Bd. XXVII. 1900. No. 9. p. 325—328.)

— —, Zur Kenntnis einiger Vogeltänien. [Vorl. Mitteil.] (Zool. Anzeiger. 1900. No. 608. p. 91—98.)

Dietel, P., Uredineae japonicae. I. (Botan. Jahrb. f. System., Pflanzengeschichte u. Pflanzengeogr. Bd. XXVII. 1899. Heft 4. p. 564—576.)

Donath, E., Wie soll doppelt-schwefligsaurer Kalk bei seiner Verwendung als Antiseptikum im Gärungsgewerbe beschaffen sein? (Wchschr. f. Brauerei. 1900. No. 10. p. 125—126.)

Eggleston, W. W., Further notes upon the distribution and host plants of Arceuthobium pusillum. (Rhodora. 1900. No. 13. p. 9—10.)

Feltz, L., Le proteus vulgaris. 8°. Paris (J.-B. Baillière) 1900. 4 fr.

Friese, H., Neue exotische Schmarotzerbienen. (Entomol. Nachrichten. 1900. No. 5. p. 65—67.)

Fuller, G. W. and **Johnson, G. A.**, Some points of the differentiation and classification of water bacteria. (Journ. of the Boston soc. of med. scienc. Vol. IV. 1900. No. 4. p. 83—84.)

Giard, A., La cochenille de San José (Aspidiotus perniciosus Comstock). 8°. 12 p. Avec fig. Paris (Impr. nation.) 1899.

Huber, J. Ch., Bibliographie der klinischen Entomologie (Hexapoden, Acarinen). Heft 4. 8°. 27 p. Jena 1900.

Jacky, E., Die Compositen bewohnenden Puccinien vom Typus der Puccinia Hieracii und deren Spezialisierung. (Ztschr. f. Pflanzenkrankh. Bd. IX. 1900. Heft 4—6. p. 193—224, 263—295, 330—346.)

Kalischer, O., Zur Biologie der peptonisierenden Milchbakterien. (Arch. f. Hygiene. Bd. XXXVII. 1900. Heft 1. p. 30—53.)

Malfitano, G., La protéolyse chez l'aspergillus niger. (Annal. de l'Instit. Pasteur. 1900. No. 2. p. 60—81.)

Omeliansky, V., Sur la fermentation de la cellulose. (Arch. d. scienc. biolog., St. Pétersbourg 1899. T. VII. No. 5. p. 411—434.)

Oudemans, A. C., Zwei neue Akariden. [Vorl. Mitteil.] (Zool. Anzeiger. 1900. No. 608. p. 89—91.)

Schattenfroh, A. u. **Grafsberger, R.**, Ueber Buttersäuregärung. I. Abhandlung. (Arch. f. Hygiene. Bd. XXXVII. 1900. Heft 1. p. 54—103.)

Stutzer, A., Die Aufnahme des Kohlenstoffs durch die Organismen Hyphomicrobium und Nitromicrobium. (Mitteil. d. landwirtschaftl. Institute d. kgl. Univers. Breslau. 1900. Heft 3. p. 36—39.)

Beziehungen der Bakterien und Parasiten zur unbelebten Natur.

Luft und Wasser.

Abba, L'acqua benedetta nelle chiese. (Riv. d'igiene e san. pubbl. 1900. No. 5. p. 153—159.)

Fuller, G. W. and **Johnson, G. A.**, On the question of standard methods for the determination of the numbers of bacteria in waters. (Journ. of the Boston soc. of med. scienc. Vol. IV. 1900. No. 4. p. 85—86.)

Jordan, E. O. and **Irons, E. E.**, Notes on bacterial water analysis. (Journ. of the Boston soc. of med. scienc. Vol. IV. 1900. No. 4. p. 81—82.)

Joudelovitch, L., Etude sur l'emploi de l'agar-agar pour les analyses bactériologiques quantitatives de l'eau. [Thèse.] Genève 1899.

Moore, G. T., Algae as a cause of the contamination of drinking water. (Amer. Journ. of pharmacy. 1900. No. 1. p. 25—36.)

Boden.

Stoklasa, J., Neue Probleme in der Bodenimpfung. (Dtsche landwirtschaftl. Presse. 1900. No. 17. p. 189—191.)

Nahrungs- und Genußmittel im allgemeinen, Gebrauchsgegenstände.

Winternitz, A., Bakteriologische Untersuchungen über den Keimgehalt und die Sterilisierbarkeit der Bürsten. (Berl. klin. Wchschr. 1900. No. 9. p. 186—187.)

Fleisch.

Bornträger, Die Beurteilung des Zusatzes schwefligsaurer Salze zum Fleische vom sanitätspolizeilichen Standpunkte. [Vortrag.] (Aus: Gesundheit.) (Samml. v. Abhandl. a. d. Gebiete der Nahrungsmittelhygiene. Heft 1.) gr. 8°. 27 p. Leipzig (F. Leineweber) 1900. 1 M.

Plehn, B., Das Fleischbeschaugesetz. (Dtsche Agrar-Ztg. 1900. Heft 8. p. 97—100.)

Villain, L., Les viandes insalubres. 18°. Paris (Asselin & Houzeau) 1900. 2 fr.

Milch, Molkerei.

Bell, A. E., The pasteurisation and sterilisation of milk. 12°. London (Rebman) 1900. 1 sh. 6 d.

Du Roi, Erfahrungen über die Anwendung des Pasteurisierverfahrens zur Bekämpfung von Butterfehlern. (Milch-Ztg. 1900. No. 9. p. 134.)

Bier, Brauerei.

van Laer, H., Recherches sur les bières à double face. (Annal. de l'Instit. Pasteur. 1900. No. 2. p. 82—101.)

Wohnungen, Abfallstoffe etc.

Bacterial treatment of crude sewage. Supplement to the second report of **Clowes** and **Houston**. Diagrams. No. 458. London 1900. 6 d.

Beziehungen der Bakterien und Parasiten zu Pflanzen.

Krankheitserregende Bakterien und Parasiten.

Ewert, Verwüstungen einiger Tipula-Arten auf Wiesen. (Ztschr. f. Pflanzenkrankh. Bd. IX. 1899. Heft 6. p. 328—329.)

Frank, Die Fusicladium- oder Schorfkrankheit des Kernobstes. Hrsg. von der biolog. Abteil. des kaiserl. Gesundheitsamtes. Plakat m. Text u. farb. Abbildgn. gr. Fol. Berlin (Paul Parey) 1900. 0,50 M.

Inhalt.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.

CENTRALBLATT
für
Bakteriologie, Parasitenkunde u. Infektionskrankheiten.
Zweite Abteilung:
Allgemeine, landwirtschaftlich-technologische Bakteriologie, Gärungsphysiologie, Pflanzenpathologie und Pflanzenschutz.
In Verbindung mit
Prof. Dr. Adametz in Wien, Prof. Dr. J. Behrens in Karlsruhe i. B., Prof. Dr. M. W. Beijerinck in Delft, Geh. Regierungsrat Prof. Dr. A. B. Frank in Berlin, Dr. v. Freudenreich in Bern, Privatdocent Dr. Lindau in Berlin, Prof. Dr. Lindner in Berlin, Dr. Morris, Chef des Hansen-Laboratory, Jenner-Institute of Preventive Medicine in London, Prof. Dr. Müller-Thurgau in Wädensweil, Dr. Erwin F. Smith in Washington, D. C., U. S. A., Prof. Dr. Stutzer in Breslau, Prof. Dr. Wehmer in Hannover, Prof. Dr. Weigmann in Kiel und Prof. Dr. Winogradsky in St. Petersburg
herausgegeben von
Dr. O. Uhlworm in Cassel
und
Prof. Dr. Emil Christian Hansen in Kopenhagen.
Verlag von Gustav Fischer in Jena.
VI. Bd. Jena, den 18. Mai 1900. No. 10.
Jährlich erscheinen 26 Nummern. Preis für den Band (Jahrgang) 20 Mark.
Preis für eine einfache Nummer 75 Pfg., für eine Doppelnummer 1 Mark 50 Pfg.
Nummern mit Tafeln kosten für jede Tafel 50 Pfg. mehr.
Hierzu als regelmäfsige Beilage die Inhaltsübersichten der I. Abteilung des Centralblattes.

Wünsche wegen Lieferung von besonderen Abdrücken wollen die Herren Mitarbeiter auf die Manuskripte schreiben oder bei Rücksendung der ersten Korrekturabzüge der Verlagsbuchhandlung mitteilen.

Original-Mitteilungen.

Nachdruck verboten.

Die schwarze Fäulnis des Kohls und verwandter Pflanzen, eine in Europa weit verbreitete bakterielle Pflanzenkrankheit.

Von **H. A. Harding**, N. Y. Agr. Exp. Station.

Mit 2 Tafeln, 1 Karte und 1 Figur.

Diese Krankheit der Gattung Brassica, die sich durch Schwarzwerden der Fasern der Gefäßbündel zu erkennen giebt, tritt in den Vereinigten Staaten von Amerika so zerstörend auf, daß auf vielen

Feldern die Ernte ganz verloren ist. Vor 1890 fast unbekannt, hat sich das Uebel fast über die ganze östliche Hälfte des Landes verbreitet, und der jährliche Schaden läßt sich auf Hunderttausende von Dollars berechnen.

Die Ausbreitung der Krankheit in Amerika und die kulturelle Charakteristik des sie verursachenden Organismus, des Bacillus campestris Pam. oder Pseudomonas campestris (Pam.) Erw. Smith, sind ausführlich beschrieben worden (s. Litteraturverzeichnis), aber die Thatsache, daß dieses Uebel kürzlich von dem Verf. in Europa in großer Ausdehnung beobachtet worden ist, dürfte von Interesse sein.

Man kann aufrichtig hoffen, daß die Vertrautheit mit dieser Krankheit, die so leicht zu erkennen und nachzuweisen ist, den Zweifel an bakteriellen Pflanzenkrankheiten, der noch bis jetzt in gewissen Kreisen fortgedauert hat, zum Schweigen bringen wird.

In dieser Absicht wird sich diese Arbeit 1) mit den Stellen in Europa beschäftigen, wo diese Krankheit beobachtet wurde, 2) mit ihrem Aussehen, 3) inneren Merkmalen, 4) der Art und Weise, wie die Keime isoliert werden, 5) der Infektion gesunder Pflanzen durch die Keime und 6) den Folgen der Infektion.

1) Beobachtungsorte. Auf der beiliegenden Karte eines Teiles von Westeuropa sind die Städte Slagelse, Kiel, Berlin, Haarlem, Bonn, Halle a. S., Fulda, Karlsruhe, Zürich, Bern und Versailles unterstrichen, um anzuzeigen, daß in ihrer Nähe die Krankheit zwischen

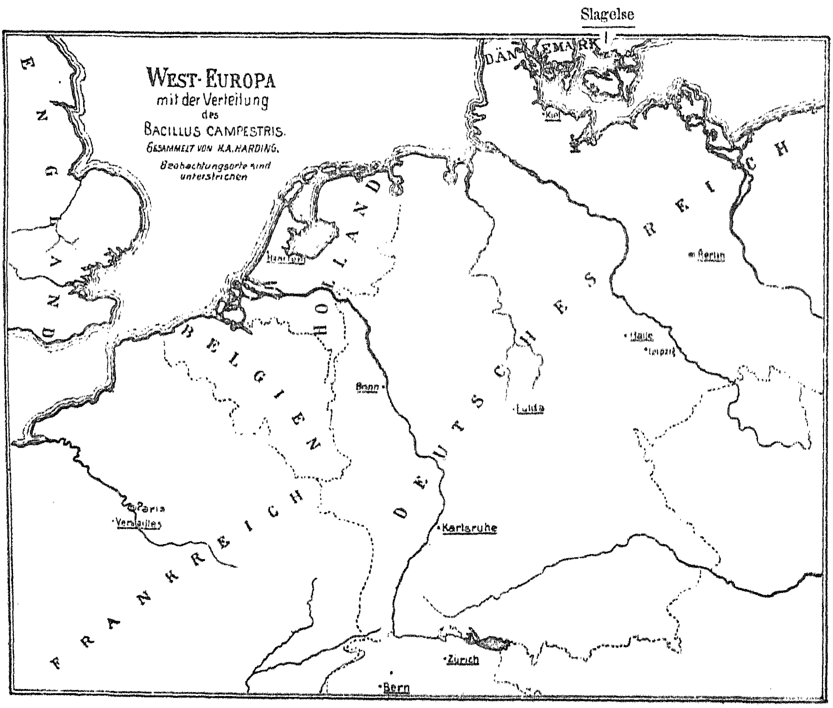




Fig. 1.

Verlag von **Gustav Fischer** in Jena.

August und Dezember 1898 auf den Feldern von dem Verf. beobachtet wurde. Diese Stellen werden nicht als die Grenzen der Ausbreitung angegeben, sondern als Orte, wo Beobachtungen angestellt wurden. Während dieser 4 Monate wurde die Krankheit in jedem der vielen untersuchten Felder aufgefunden.

Obgleich sie auch gelegentlich bei anderen Gliedern der Gattung Brassica beobachtet wurde, war doch der Kohl — der rote wie der grüne — ihr eigentlicher Wirt. Die Beschreibung und Besprechung bezieht sich auf diese Pflanze, ist aber im Allgemeinen auch auf die anderen. Glieder der Familie anwendbar.

Trotz dieser allgemeinen Verbreitung ist der verursachte Schaden größtenteils gering und nur in der Schweiz und vielleicht in Dänemark ist die Kohlkrankheit von einiger ökonomischer Wichtigkeit.

2) Aussehen auf dem Felde. Das gröbliche Aussehen der Krankheit tritt so deutlich hervor, daß man sie sogleich erkennt.

Die Ansteckung findet gewöhnlich durch die Wasserporen derjenigen Blätter statt, die der Erde am nächsten sind. Hier werden 1 oder 2 qcm des Blattes zuerst gelb und gehen dann in Braun über, nicht unähnlich der Wirkung der Trockenheit, nur daß das Gewebe des Blattes ein mehr pergamentartiges Aussehen hat. Bei der Betrachtung in durchfallendem Lichte treten kleine, schwarze Aederchen scharf hervor. Dieses frühe Stadium der Infektion wird durch die Photographie eines spontan infizierten Kohlblattes an den (Fig. 1) bezeichneten Stellen erläutert. Später erstreckt sich die braune Farbe bis zur Mittelrippe durch die Adern, in welche der Keim zuerst eingedrungen ist.

Das Nagen eines Insektes oder sonst ein Zufall kann am äußeren Ende des Gefäßbündels zum Eindringen des Krankheitskeims Gelegenheit geben, aber diese Art der Infektion ist verhältnismäßig selten, ist jedoch beobachtet worden.

Das zweite Stadium der Krankheit tritt ein, wenn die Infektion in dem Blattstiel, von da in den Stamm und dann in die anderen Blätter übergegangen ist. Der braune Fleck zeigt sich in ihnen gewöhnlich nahe an der Mitte der Blattfläche und läßt bei seiner Ausbreitung bisweilen kleine unregelmäßige chlorophyllhaltige Stellen in der Nähe der stärkeren Adern zurück. Diese lebhaft grünen Flecken bleiben oft an getrockneten Exemplaren erhalten. Die Aederchen in dem erkrankten Teile sehen aus wie ein schwarzes Netzwerk, wenn sie in durchfallendem Lichte betrachtet werden. Oft erscheint eine Anzahl solcher braunen Flecken an einem Blatte, und wenn sie sich ausbreiten, welkt dieses und fällt zuletzt ab. Dann zeigt die Blattnarbe eine Anzahl von schwarzen Punkten, den infizierten Gefäßbündeln entsprechend. Diese Schwärzung der Gefäßbündel, die man entweder auf der Blattfläche oder in den später zu beschreibenden Quer- und Längsschnitten sieht, ist die am meisten charakteristische Erscheinung bei dieser Krankheit.

3) Histologische Untersuchung. Ein Längsschnitt durch ein erkranktes Blattstück zeigt die kranken Gefäßbündel als schwarze Linien. Diese Färbung ist so scharf, daß man die Verzweigung des Gefäßbündelsystems und die letzten Ausläufer der Fasern bei der

Sektion ganz ebenso verfolgen kann, wie der Histolog an Tieren ein injiziertes Gefäßsystem verfolgt.

Auf dem Querschnitt eines Blattstieles erscheinen die kranken Gefäßbündel als schwarze Punkte, und in einigen Fällen zeigt sich ein kleiner Tropfen von braunem, klebrigem Exsudat. Die letztere Erscheinung ist nicht häufig, wird aber dadurch begünstigt, daß man das Gewebe in eine wärmere Atmosphäre bringt.

Bei mikroskopischer Untersuchung sieht man, daß die Farbe durch Braunfärbung der Wände der Tracheen und durch Verstopfung des Lumens der Gefäße mit einer kleinkörnigen Masse hervorgebracht wird. In erst kürzlich ergriffenem Gewebe, wo das Gefäßlumen nicht ganz gefüllt ist, sieht man Bakterien umherschwimmen. Die Verschließung des Lumens verhindert wahrscheinlich den Zufluß des Wassers und verursacht das Welken des Blattes, das man so oft beobachtet, wenn die Krankheit längs des Blattstieles aufsteigt, aber die Blattspreite noch nicht erreicht hat.

Ausgenommen in den vorgerückten Stadien der Krankheit sind diese pathologischen Veränderungen ausschließlich auf das Xylem beschränkt.

Da alle bei Bakterien anwendbaren Farbstoffe Pflanzengewebe mit selbst größerer Begierde färben, als diese, hat sich noch kein Verfahren finden lassen, das ein genügendes, gefärbtes Bild der Bakterien in situ lieferte. In Paraffinschnitten, die mit Weigert's Fibrinfärbung behandelt wurden, färbte sich das verstopfte Lumen blau. Aber dies war eher eine Reaktion der Matrix, als der Bakterien, und soviele auch davon vorhanden waren, ließen sie sich doch nicht sicher von den verschiedenen Körnchen unterscheiden.

Wenn man ein Gefäßbündel bis in die Nähe der Wasserporen verfolgt, verschwinden die verschiedenen Elemente und zuletzt auch die Scheide, und nur die Tracheiden bleiben übrig. Diese endigen ganz nahe an den zahlreichen Oeffnungen der Wasserporen, von welchen sie durch eine Decke von kleinen, runden Parenchymzellen getrennt werden. Diese Zellen besitzen viele Intercellularräume, durch welche das in den Gefäßbündeln zugeführte Wasser die Wasserporen erreicht. Diese Anordnung wird leicht verständlich bei Betrachtung von Fig. 2, welche mit der Camera lucida nach einem eingebetteten Schnitte gezeichnet ist.

Zu der Zeit, wenn Wassertropfen an den Poren hängen, können Bakterien den Weg zu ihnen finden und zwischen den geöffneten Schutzzellen hindurch in den gefüllten Wasserbehälter hinter ihnen eindringen. Von hier aus finden sie die mit Wasser gefüllten Intercellularräume, längs denen sie rückwärts zu den Enden der Spiralzellen vordringen können. Die Art ihres Eintretens in diese ist nicht genauer beobachtet worden, aber da dieser Organismus fähig ist, Gelatine zu verflüssigen, besitzt er und gebraucht wahrscheinlich Enzym bildende Kräfte.

Das ausgeschwitzte Wasser enthält genügende Nahrung in Lösung, um die Bakterien eine beträchtliche Zeit hindurch zu unterhalten. Dies wurde dadurch bewiesen, daß man eine hinreichende Menge dieser Flüssigkeit sammelte, den P. campestris hinzufügte und

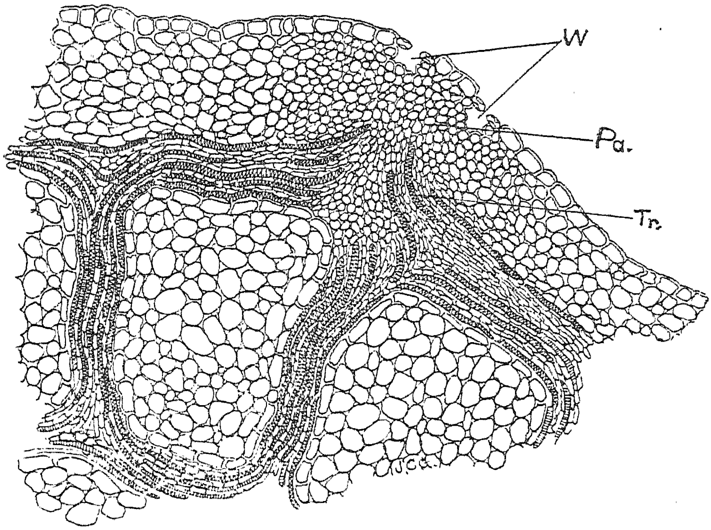


Fig. 2. Durchschnitt durch ein Kohlblatt mit Wasserporen parallel der Oberfläche (Camera lucida). *W.* Wasserspaltöffnungen. *Pa.* Schmalzellige Parenchyme. *Tr.* Tracheiden, welche das fibro-vasculure Bündel begrenzen.

nachwies, daß er sich nach den gewöhnlichen quantitativen Methoden vermehrte.

4) Isolierung. Mit Ausnahme der fortgeschrittenen Stadien der Krankheit ist der die Krankheit verursachende Organismus allein vorhanden, und wenn bei der Einführung eines Fragments eines Gefäßbündels in das Kulturmittel die nötige Vorsicht angewendet wird, erhält man eine Reinkultur. Man entnimmt das Material am besten von dem fleischigen Teile einer Mittelrippe oder von dem Stamm.

Das beste Kulturmittel zur Isolierung ist Koch's Agar-Agar, neutral gemacht zu Phenolphthalein mit NaOH. Durch Zugabe von 2 Proz. Glykose wird das Wachstum üppiger. Man muß sich hüten, bei einer Wärme von 42° C zu impfen, denn der Organismus wird leicht durch Hitze getötet. Am schnellsten wächst er bei 25—30° C, aber nicht mehr bei 37° auf Agar-Agar. Kulturen auf Gelatine mißlingen gewöhnlich. Subkulturen auf Kartoffeln sind sehr charakteristisch. Das Gewächs ist hellgelb und so üppig, daß es nach 10 Tagen von der Kartoffel abfließt. Wegen weiterer Kultureigenschaften sehe man das Litteraturverzeichnis nach, besonders Smith, Centralbl. f. Bakt. II. Abt. Bd. III. p. 284 u. Russell u. Harding, Wis. Exp. Sta. Bull. No. 65.

5) Art der Infektion. Junge, kräftige, schnell wachsende Kohl- oder Blumenkohlpflanzen sind die besten. Bei alten oder langsam wachsenden dringt die Krankheit langsam ein, sie macht dann keine schnellen Fortschritte und tötet die Pflanze nur selten. Im Warmhause ist eine Temperatur von ungefähr 24° C bei Tage und 16° C bei Nacht, nebst reichlicher Bewässerung wünschenswert.

Die zu inokulierende Oberfläche muß mit Sublimat (1 : 1000) oder 5-proz. Karbollösung sorgfältig gereinigt und mit steriler, absorbierender Baumwolle gut abgetrocknet werden. Die Inokulation wird mit einer erhitzten, in einer jungen Kultur getauchten Nadel gemacht, und der geeignetste Punkt ist die Basis des Blattstiels oder der Stamm der Pflanze. Man muß dafür sorgen, daß die Nadel in ein Gefäßbündel eindringt.

Man kann die natürliche Art der Ansteckung nachahmen, wenn man am frühen Morgen, wenn die Wassertropfen noch vorhanden sind, die Kultur direkt in die an der Pflanze hängenden Tropfen einbringt. Unter ein paar Hundert solcher Infektionen gaben am Kohl nicht weniger als 50 Proz. guter Ansteckungen. Das darauf folgende Aussehen sieht man genau in der Figur 1.

6) Erhaltene Resultate. Um eine direkte Vergleichung zwischen den in Europa und Amerika erhaltenen Keimen anzustellen, wurden dreierlei Kulturen ausgeführt.

Der „New York"-Keim wurde aus krankem Kohl im Sept. 1898 von Mr. F. C. Stewart, Botaniker an der N. Y. Agric. Exp. Stat. isoliert.

Die „Schweizer" Kultur stammte von einem kranken „Rosenkohl" aus einem Garten bei Zürich, Schweiz. Die Kultur wurde im Nov. 1898 im Laboratorium des eidgen. Polytechnikums mit freundlicher Beihilfe des Dr. R. Burri isoliert.

Der „Wisconsin"-Keim wurde von dem Verf. in Verbindung mit Dr. H. L. Russell aus krankem Blumenkohl in Madison, Wisconsin im Sept., 1896 isoliert und hatte sich seitdem immer auf künstlichen Kulturböden fortgepflanzt.

Experiment I. 6. März 1899. Kohlpflanzen, 3 Monate alt, 20 cm hoch, in 12 cm-Töpfen, schnell wachsend, reichlich mit Wasser versehen, wurden mit allen oben empfohlenen Vorsichtsmaßregeln inokuliert. Die Pflanzen wurden mit 5 Proz. Karbolsäure desinfiziert und an der Basis zweier Blattstiele und im Stamm in der Mitte zwischen den Basen dieser Blattstiele angestochen. Die Vergleichspflanzen wurden genau auf dieselbe Weise behandelt, nur wurden sie mit der sterilen Nadel angestochen.

New York-Keim in den Pflanzen	1, 2, 3, 4
Schweizer „ „ „ „	5, 6, 7, 8
Wisconsin- „ „ „ „	9, 10, 11, 12
Kontrollpflanzen	13, 14, 15, 16

21. März. New York No. 1. Ein Blatt schwach, an 3 anderen Blättern ist die Krankheit gut markiert.

No. 2. Die Krankheit zeigt sich schwach an 3 Blättern.

No. 3. Nur ein Blatt zeigt die Krankheit auf der Spreite.

No. 4. Krankheit schwach an einem Blatte.

Schweiz No. 5. Anscheinend gesund.

No. 6. Die Krankheit deutlich auf der Spreite von 3 Blättern.

No. 7. Gut markierter Fall, ein Blatt verwelkt, die Krankheit zeigt sich auf den Spreiten von zwei anderen.

No. 8. Gut markierter Fall, ein Blatte schwach, die Krankheit erscheint auf den Spreiten zweier anderer Blätter.

Wisconsin No. 9—12. Alle schienen gesund.

23. März. Schweiz No. 5. An einem Blatt werden die Aederchen dunkel.

27. März. Wisconsin No. 9, 10, 12 zeigen die Krankheit an einem Blatte. Später erkrankte auch Wis. No. 11, und am 7. Mai hatte das Uebel solche Fortschritte an Schweiz No. 7 gemacht, daß die Pflanze beinahe tot war.

Die Kontrollpflanzen 13, 14, 15, 16, sowie eine Anzahl anderer Pflanzen, die zwischen den erkrankten standen, blieben sämtlich gesund. Das Aussehen der Krankheit an diesen Pflanzen glich der oben gegebenen Beschreibung der Krankheit auf dem Felde, und es zeigte sich kein merklicher Unterschied, abgesehen von der Schnelligkeit des Fortschrittes bei den mit Kulturen aus der Schweiz, aus Wisconsin oder von New York inokulierten Pflanzen. Der Zustand von New York No. 1 (N) und Schweiz No. 6 (S), 2 Monate nach der Impfung, im Vergleich mit einer Kontrollpflanze (C) sieht man in Fig. 3. Die Diagnose hing nicht von dem äußeren Aussehen ab, sondern es wurden von Teilen jeder der 12 Pflanzen Kulturen angelegt an von der Stelle der Inokulation weit entfernten Orten. In jedem Falle wurde in der Pflanze derselbe Organismus gefunden, und die sorgfältige Vergleichung der Kulturen von New York, der Schweiz und Wisconsin mit den in den Pflanzen No. 1—12 gefundenen Keimen zeigte keinerlei Unterschied.

Da die Fähigkeit, in dem Gewebe des Kohles zu gedeihen und darin die oben beschriebenen Läsionen des Gewebes hervorzubringen, die am meisten charakteristische Eigentümlichkeit des P. campestris ist, wurde die Identität der von obigen Pflanzen herstammenden Kulturen weiteren Versuchen durch fortgesetzte Inokulation unterworfen.

Experiment II. 1. Mai 1899. Pflanzen des frühen Jersey-Wakefield-Kohls, anderthalb Monate alt, 20 cm hoch, in 15 cm-Töpfen, sehr zart und schnell wachsend. Sie wurden neben die von Exp. I gestellt. Das Impfungsverfahren war dasselbe wie bei Exp. I, nur daß die Pflanzen mit Aetzsublimat 1 : 1000 gewaschen wurden. Die Pflanzen wurden folgendermaßen inokuliert:

Kultur von New York No. 2	in die Pflanzen	20, 21, 22, 23, 24
„ „ Schweiz No. 5	„ „ „	25, 26, 27, 28, 29
„ „ Wisconsin No. 11	„ „ „	30, 31, 32, 33, 34
Kontrollpflanzen		35, 36, 37, 38, 39

10. Mai 1899. No. 22. Die Krankheit erscheint auf der Spreite eines Blattes.

No. 24. Ein Blatt ganz schwach, kein anderes Zeichen von Krankheit.

Schweiz No. 25. Die Krankheit zeigt sich auf der Spreite eines Blattes.

No. 26. Die Krankheit ist deutlich auf den Spreiten von 2 Blättern, von denen eins über den inokulierten steht. Krankheit deutlich durch Verlust von Chlorophyll an gewissen Stellen und durch Dunkelwerden der gröberen Aederchen in diesen Gegenden. Die kranken Stellen sind gelblich gefärbt.

No. 28. Die Seite eines Blattes ist matt. Die Adern der Spreite dunkel. Letztere entfärbt.

11. Mai. Schweiz No. 29. Leichte Erkrankung einer Blattspreite.

New York No. 21. Die Krankheit erscheint auf der Spreite eines Blattes.

New York No. 22. Krankheit auf der Spreite eines Blattes.

No. 24. Ein Blatt ganz welk, mit einigen schwarzen Adern auf der Spreite.

12. Mai. New York No. 21. Krankheit auf der Spreite von 5 Blättern.

New York	No. 22.	Krankheit	auf	der	Spreite	von	3	Blättern.
	No. 23.	"	"	"	"	"	1	Blatt.
Schweiz	No. 25.	"	"	"	"	"	3	Blättern.
	No. 26.	"	"	"	"	"	2	"
	No. 28.	"	"	"	"	"	3	"
	No. 29.	"	"	"	"	"	2	"

13. Mai. Wisc. No. 31. Krankheit auf der Spreite eines Blattes.

18. Mai. New York No. 20. Krankheit auf der Spreite eines Blattes.

New York	No. 21.	5 Blätter schwer krank. Pflanze verkümmert.
	No. 22.	Hat 5 kranke Blätter.
	No. 23.	" 3 " "
	No. 24.	Hat 2 Blätter verloren; 3 andere sink krank.
Schweiz	No. 25.	Pflanze verkümmert. Krankheit deutlich an 6 Blättern.
	No. 26.	Pflanze verkümmert. 6 kranke Blätter.
	No. 27.	" " 5 " "
	No. 28.	" " 4 " "
Wisconsin	No. 30.	Krankheit schwach an einem Blatte.
	No. 31.	" " " " "
	No. 33.	" " " " "
	No. 34.	" " " " "

Später zeigte Wisc. No. 32 Krankheit, aber die Kontrollpflanzen No. 35—39 blieben alle gesund.

Die von den in Exp. II herstammenden Keime wurden mit den Originalkeimen „New York", „Schweiz" und „Wisconsin" verglichen und kein Unterschied gefunden, wenn sie neben einander auf den verschiedenen Kulturböden wuchsen.

Andere Versuche wurden auf wesentlich dieselbe Weise und mit demselben Erfolge an Blumenkohlpflanzen im Kalthause und mit Rotkohl im Freien angestellt.

Schluß.

Bei obigen Experimenten versuchte man, alle Vorschriften Koch's so genau zu beobachten, wie es bei tierischen Krankheiten geschieht. Da dies nicht einmal, sondern vielmals auf gründliche Weise geschehen ist, so scheint der Schluß berechtigt, daß es wenigstens in der Schweiz eine echte bakterielle Pflanzenkrankheit giebt, die in jeder Hinsicht einer in Amerika weit verbreiteten gleicht.



Fig. 3.

Verlag von **Gustav Fischer** in Jena.

Ferner, da jede Pflanzenkrankheit gewisse äußere Kennzeichen darbietet, die dem damit Vertrauten eine Grundlage für die Diagnose liefern, und da der Verf. sich seit dem Jahre 1896 in Amerika und Europa mit dieser Krankheit beschäftigt hat, kann man nach den angeführten Beobachtungen im Freien annehmen, daß diese Krankheit, wenigstens in milder Form, in einem großen Teile von Westeuropa herrscht. Für die, welche noch an dem Vorkommen von bakteriellen Pflanzenkrankheiten zweifeln, wäre nichts leichter, als diesen Gegenstand selbst zu untersuchen, da sie, wenigstens in vielen Fällen, nur zu dem nächsten Kohlfelde hinzugehen brauchen, um Material zu finden. In manchen Fällen kann man es von den Pflanzen in botanischen Gärten erhalten.

Dieser Bericht würde unvollständig sein, erwähnte er nicht die zahlreichen Freundlichkeiten europäischer Gelehrten. Von Kiel bis Genf wurden meine Bitten um Beistand immer bereitwilligst gewährt, und oft kam man meinen Bedürfnissen zuvor. Das Anerbieten des Dr. C. Fränkel, daß sein Laboratorium und dessen Ausrüstung zu meiner Verfügung stehe, war charakteristisch für Alle.

Geneva, N.Y., U.S.A, Nov. 1899.

Litteratur.

1890 Garman, H., A bacterial disease of cabbage. (Ky. Exp. Station Rep. p. 43.)

1895 Pammel, L. H., Bacteriosis of rutabaga. (Jowa Exp. Station Bull. 27. p. 130. Reprinted May 1895. Am. Mo. Micro. Journ. p. 145.)

1896 Russell, H. L., A leaf-rot of cabbage. (Proc. Amer. Assoc. for Adv. of Sc. Vol. XLIV. p. 193. Read in Aug. 1895.)

1897 June. Smith, Erwin F., Science N.S. Vol. V. p. 963.

1897 July to Sept. Smith, Erwin F., Pseudomonas campestris (Pammel). The cause of a brown rot in cruciferous plants. (Centralbl. f. Bakt. 2. Abt. Bd. III. p. 284. Abs. in Amer. Nat. No. 32. p. 290.)

1898 Jan. Smith, Erwin F., The black rot of the cabbage. (U. S. Dept. of Agr. Farmer's Bulletin No. 68.

1898 Feb. Smith, Erwin F., Additional notes on the bacterial brown rot of cabbages. (Bot Gaz. p. 107. Amer. Nat. No. 32. p. 99.)

1898 Feb. Russell, H. L. and Harding, H. A., A bacterial rot of cabbage and allied plants. (Wis. Exp. Station Bull. No. 65.)

1898 March. Russell, H. L., A bacterial disease of cabbage and allied plants. (Proc. Eleventh An. Con. Amer. Col. and Exp. Stations. p. 86. Prepared for the meeting in July 1897.)

1898 Smith, Erwin F., Description of Bacillus phaseoli n. sp. with some remarks on related species. (Proc. Am. Ass. for Adv. of Sc. Vol. XLVI. p. 288. Read in Aug. 1897.)

1898 Smith, Erwin F., The spread of plant Diseases. (Lect. before Mass. Hort. Society. Read in March 1897.

1898 July. Smith, Erwin F., Pseudomonas campestris (Pammel) Erw. Smith, Die Ursachen der „Braun"- oder „Schwarz"-Trocken-Fäule des Kohls. (Zeitschr. f. Pflanzenkrankh. Bd. VIII. p. 134.

1898 Sept. Jones, L. R., Club foot and black rot. Two diseases of the cabbage and turnip. (Vermont Exper. Station Bull. No. 66.)

1899 March. Smith, Erwin F., Gelatine culture media. (Amer. Nat. No. 33. p. 214.)

1899 Dec. Harding, H. A., On the occurrence of black rot of cabbage in Europe. (Proc. Am. Ass. for Adv. of Sc. Vol. XLVIII. p. 294. Read in Aug. 1899.)

Tafelerklärung.

Fig. 3. Zwei Pflanzen geimpft mit B. campestris und gesunde; Kontrolle 2 Monate nach der Infektion. N = New York No. 1. C = Kontrolle. S = Schweiz No. 6.

Nachdruck verboten.

Ueber einige in reifen Käsen gefundene Milchsäurebakterien.

[Aus dem milchwirtschaftlich-chemischen und bakteriologischen Laboratorium des landwirtschaftlichen Instituts der Universität Göttingen.]

Von **G. Leichmann** und **S. v. Bazarewski.**

(Schluß.)

Bacterium casei III

(Kulturstamm 1)

aus dem Goudakäse steht morphologisch den bisher besprochenen Formen so nahe, daß sich ein durchgreifendes Unterscheidungsmerkmal nicht mit Sicherheit aufstellen läßt. Man kann nur soviel sagen, daß diese Species weniger Neigung hat, Ketten zu bilden, wenn sie auch mehrfach in Kettenverbänden vorkommt, und daß lange Fäden häufiger auftreten als bei den vorher beschriebenen Arten. Ueberdies scheint se oft, als wenn diese Stäbchen etwas breiter wären als jene.

Als Hauptstoffwechselprodukt tritt auch beim Wachstum dieser Stäbchen in Milch Milchsäure auf, jedoch die optisch inaktive[1]) Modifikation, daneben etwas flüchtige Säure, wahrscheinlich Essigsäure[2]) und eine geringe Menge flüchtiger neutraler Verbindungen[3]).

(Kulturstamm 2.)

Ein zweiter aus dem Goudakäse gewonnener Kulturstamm, vollkommen mit den soeben beschriebenen übereinstimmend gestalteter Stäbchen erwies sich bei eingehender Untersuchung als identisch mit Kulturstamm 1.

Bei chemischer Untersuchung einer durch diese Form vergorenen Milch fand man wiederum neben flüchtigen, neutralen, Jodoformreaktion gebenden Stoffen und etwas flüchtiger Säure als Hauptprodukt der Gärung optisch inaktive Milchsäure[4]).

---

1) 1,1636 g des in der oben bezeichneten Weise aus einer durch Wirkung dieser Species vergorenen Milch gewonnenen lufttrockenen Zinksalzes verloren bei 110° C 0,2111 g an Gewicht und hinterließen beim Glühen 0,3196 g Rückstand. Das Salz enthielt hiernach 18,13 Proz. Krystallwasser und im wasserfreien Zustande 33,5 Proz. ZnO.

Andere 1,4544 g des Salzes verloren bei 110° 0,2642 g an Gewicht und hinterließen beim Glühen 0,3986 g Rückstand, was einem Gehalt des lufttrockenen Salzes an Krystallwasser von 18,16 Proz. und einem Gehalt des wasserfreien Salzes an ZnO von 33,5 Proz. entspricht.

Wenn hierdurch das Salz als Zinksalz der inaktiven Milchsäure charakterisiert ist, so erwies sich auch die Lösung des Salzes als optisch inaktiv.

2) 0,7060 g Baryumsalz der in oben geschilderter Weise gewonnenen flüchtigen Säure, bei 130° getrocknet, ergaben nach Behandlung mit H_2SO_4, Trocknen und Glühen 0,6418 g Ba SO_4 = 0,3775 g Ba, was einem Gehalte von 53,47 Proz. Ba des Baryumsalzes der flüchtigen Säure entspricht.

53,70 Proz. Ba enthält nach Berechnung das essigsaure Baryum.

3) Das aus der neutralisierten vergorenen Kulturflüssigkeit gewonnene Destillat gab eine auffallend starke Jodoformreaktion.

4) 1,0773 g lufttrockenen Zinksalzes verloren bei 110° 0,1963 g an Gewicht und hinterließen beim Glühen 0,2951 g Rückstand. Hiernach enthielt das Salz 18,2 Proz. Krystallwasser und im wasserfreien Zustande 33,5 Proz. ZnO.

Uebereinstimmend zeigten sich diese beiden Kulturstämme in ihrem Verhalten den verschiedenen Zuckerarten gegenüber. In Peptonnährsalzlösung wuchsen beide nur kümmerlich, selbst wenn eine für sie sehr leicht angreifbare Zuckerart als Gärmaterial darin enthalten war. Es wurde deshalb nur entzuckerte Bouillon zu den Versuchen angewendet. In der Bouillon brachten diese Formen, wenn eine gärfähige Zuckerart zugefügt wurde, zum Unterschiede von unseren Bacillen des Emmenthaler- und Chesterkäses eine diffuse Trübung hervor. Erst in längerer Zeit trat Sedimentierung ein, doch selten eine so vollständige, daß die überstehende Flüssigkeit ganz klar wurde. Der Bodensatz haftete dann gewöhnlich sehr fest am Glase und ließ sich meist nur schwer und unvollkommen in der Lösung verteilen. Freie Gase wurden nicht produziert.

Kulturstamm 1.

Entzuckerte Bouillon	Nach 12-tägigem Verweilen der Röhrchen im Thermostaten bei 34°		
	Makroskopischer Befund an den Kulturflüssigkeiten	Acidität, bestimmt durch Titration mit $\frac{N}{4}$ - Natronlauge in 7 ccm	
		der Kulturflüssigkeit	der sterilen Nährlösung
Zuckerfrei	klar	0,70	0,65
+ Glycerin	desgl.	0,68	0,60
+ Mannit	Trübung und Bodensatz	1,90	0,65
+ Maltose	Trübung und starker Bodensatz	2,85	0,75
+ Rohrzucker	klar	0,70	
+ Traubenzucker	Trübung und starker Bodensatz	3,00	0,80

Entzuckerte Bouillon	Nach 14-tägigem Verweilen der Röhrchen im Thermostaten bei 30°		
Zuckerfrei	völlig klar	0,38	0,38
+ Glycerin	desgl.	0,35	0,40
+ Mannit	mäßig starker Bodensatz	1,50	0,38
+ Rohrzucker	klar	0,38	0,38
+ Maltose	starker Bodensatz	3,00	0,40
+ Milchzucker	desgl.	3,00	0,40
+ Traubenzucker	desgl.	2,95	

Kulturstamm 2.

Entzuckerte Bouillon	Nach 12-tägigem Verweilen der Röhrchen im Thermostaten bei 34°		
Zuckerfrei	völlig klar	0,65	0,65
+ Glycerin	desgl.	0,65	0,60
+ Mannit	Trübung, Bodensatz	1,90	0,65
+ Maltose	desgl.	2,90	0,75
+ Rohrzucker	völlig klar	0,70	0,60
+ Arabinose	minimale Trübung	0,85	0,80
+ Traubenzucker	Trübung, starker Bodensatz	3,00	0,80

Andere 1,0241 g des Salzes verloren bei 110° 0,1874 g an Gewicht und hinterließen 0,2806 g Rückstand beim Glühen; enthielten also 18,3 Proz. Krystallwasser und im wasserfreien Zustande 33,5 Proz. ZnO. Die Lösung des Salzes war optisch inaktiv.

Entzuckerte Bouillon	Nach 14-tägigem Verweilen der Röhrchen im Thermostaten bei 30°		
	Makroskopischer Befund an den Kulturflüssigkeiten	Acidität bestimmt durch Titration mit $\frac{N}{4}$-Natronlauge in 7 ccm	
		der Kulturflüssigkeit	der sterilen Nährlösung
Zuckerfrei	völlig klar	0,38	0,38
+ Glycerin	desgl.	0,35	0,40
+ Mannit	Bodensatz	1,75	0,38
+ Rohrzucker	klar	0,40	0,38
+ Maltose	starker Bodensatz	3,15	0,40
+ Milchzucker	desgl.	3,15	0,40
+ Traubenzucker	desgl.	3,15	

Sterile Milch in Kulturröhrchen gerinnt unter der Einwirkung dieser Bacillen

bei 23° in ca. 8—11 Tagen
„ 28° „ „ 4—6 „
„ 30° „ „ 4—6 „
„ 34° „ „ 2—5 „
„ 37° „ „ 7 „
„ 40° „ „ 7—20 „

Bei 42° tritt in Milch dauernd keine Koagulation, in Traubenzuckerbouillon keine Trübung, also überhaupt kein Wachstum der eingesäten Organismen mehr ein.

Unter den in der Litteratur beschriebenen Arten stehen dieser Form der Saccharobacillus pastorianus van Laer und das Bacterium pabuli acidi III Weiß besonders nahe. Doch unterscheidet sich der Saccharobacillus von unserem Bakterium durch sein Vermögen, den Rohrzucker energisch anzugreifen, welches diesem, wie wir sahen, mangelt; während Bacterium pabuli acidi III im Gegensatze zu dem Käsebakterium niemals in Kettenverbänden auftritt und beim Wachstume in zuckerhaltigen Substraten freie Gase, wenn auch nur in unbedeutender Menge, zu produzieren befähigt ist.

Streptococcus casei
aus Emmenthalerkäse.

Die kleinen unbeweglichen Zellen dieser Art erscheinen nicht kreisrund, sondern polygonal, oft annähernd in Dreiecksform. Sie sind meist einzeln oder zu zweien, häufig perlschnurartig zu dreien oder vieren verbunden und mitunter, doch nur relativ selten, treten sie in langen Ketten auf. Eine gewisse Aehnlichkeit im mikroskopischen Bilde zwischen dieser Form und dem Bakterium der sauren Milch, Bacterium lactis acidi Leichmann, ist unverkennbar.

Sterile Milch im Kulturröhrchen gerinnt unter der Einwirkung dieser Organismen

bei 28° in ca. 2—4 Tagen
„ 30° „ „ 2—3 „
„ 33° „ „ 2 „
„ 37° „ „ 1 Tage

bei 40° in ca. 1 Tage
„ 42° „ „ 1—2 Tagen
„ 45° „ „ 1—2 „

Bei 48° tritt in Milch keine Koagulation und in Traubenzuckerbouillon keine Trübung mehr ein.

Beim Wachstume dieser Kokken in Milch entsteht als Hauptstoffwechselprodukt rechtsdrehende Milchsäure [1]), ferner etwas flüchtige Säure, wahrscheinlich Essigsäure [2]) und zweifelhafte Spuren flüchtiger neutraler, Jodoformreaktion gebender Verbindungen.

Entzuckerte Bouillon	Nach 14-tägigem Verweilen der Röhrchen im Thermostaten bei 34°		
	Makroskopischer Befund an den Kulturflüssigkeiten	Acidität, bestimmt durch Titration mit $\frac{N}{4}$ - Natronlauge in 7 ccm: der Kulturflüssigkeit	der sterilen Nährlösung
Zuckerfrei	völlig klar	0,64	0,63
+ Glycerin	sehr schwache Trübung	0,90	0,60
+ Arabinose	minimale Trübung	0,80	0,80
+ Rohrzucker	klar	0,64	0,60
+ Traubenzucker	Trübung, Bodensatz	2,40	0,65
Entzuckerte Bouillon	**Nach 18-tägigem Verweilen der Röhrchen im Thermostaten bei 30—33°**		
Zuckerfrei	klar	0,33	0,38
+ Glycerin	minimale Trübung	0,65	0,40
+ Mannit	desgl.	0,30	0,38
+ Rohrzucker	klar	0,33	0,38
+ Maltose	starker Bodensatz	1,50	0,40
+ Milchzucker	desgl.	1,30	0,40
+ Traubenzucker	desgl.	1,70	

Beim Wachstume in der zuckerhaltigen Bouillon bildet diese Species diffuse Trübung. Der Bodensatz, der sich mit der Zeit bildet, ist durch Schütteln leicht verteilbar. Entwickelung freier Gase wurde niemals beobachtet.

---

1) 1,6342 g des in der oben bezeichneten Weise aus einer durch Wirkung dieser Species vergorenen Milch gewonnenen lufttrockenen Zinksalzes verloren bei 110° C 0,2136 g an Gewicht und hinterließen beim Glühen 0,4775 g Rückstand. Hiernach enthielt das Salz 13,07 Proz. Krystallwasser und im wasserfreien Zustande 33,6 Proz. ZnO.

Andere 1,6650 g des Salzes verloren bei 110° 0,2184 g an Gewicht und hinterließen 0,4866 g Rückstand beim Glühen, was einem Gehalt des lufttrockenen Salzes an Krystallwasser von 13,11 Proz. und einem Gehalt des wasserfreien Salzes an ZnO von 33,6 Proz. entsprechend ist.

Die Lösung des Salzes war linksdrehend.

2) 0,4832 g Baryumsalz der in der oben geschilderten Weise gewonnenen flüchtigen Säure, bei 130° getrocknet, ergaben nach Behandlung mit H_2SO_4, Trocknen und Glühen 0,4472 g Ba SO_4 = 0,2630 g Ba.

Das Baryumsalz der flüchtigen Säure enthielt somit 54,43 Proz. Ba, während reines essigsaures Baryum nach Berechnung 53,72 Proz. Ba enthält.

Bacterium casei IV
aus dem Goudakäse,

ein ovales Kurzstäbchen, ist morphologisch von Bacterium lactis acidi Leichmann nicht zu unterscheiden, mit dem es sich auch sonst in allen wesentlichen Eigenschaften übereinstimmend erwies.

In Milch bildet dasselbe, abgesehen von zweifelhaften Spuren der die Jodoformreaktion gebenden, flüchtigen, neutralen Körper, lediglich Rechtsmilchsäure [1]).

Es bringt Milch in Kulturröhrchen zur Gerinnung

bei 28° in ca. 1—2 Tagen
„ 30° „ „ 1 Tage
„ 34° „ „ 1—2 Tagen
„ 37° „ „ 4 „

Bei 40° gerann die infizierte Milch nicht; und als Traubenzucker- und Milchzuckerbouillon mit diesem Stäbchen geimpft und bei 40° gehalten wurden, zeigte es sich, indem diese Flüssigkeiten dauernd klar blieben, daß unser Kurzstäbchen bei dieser Temperatur überhaupt nicht mehr zu wachsen vermochte.

Da nun Bacterium lactis acidi, wie der Eine von uns früher ermittelt hat, bei 40° noch sehr wohl zu gedeihen fähig ist, hielten wir es für angezeigt, um diese Angabe zu kontrollieren, einige aus verschiedenen freiwillig gesäuerten Milchproben frisch gewonnene Reinkulturstämme dieser Species neuerdings auf ihr Verhalten bei verschiedenen Wärmegraden zu prüfen und beobachteten Folgendes.

Bacterium lactis acidi.

Stamm 1.

Milch gerinnt bei 30° in ca. 12 Stunden,
„ „ „ 37° „ „ 8—12 „
„ „ „ 40° „ „ 12 „
„ „ „ 42° nicht.

Stamm 2.

Milch gerinnt bei 30° in ca. 12 Stunden,
„ „ „ 40° „ „ 12 „
„ „ „ 42° „ „ 2 Tagen,
„ „ „ 45° nicht.

Stamm 3.

Milch gerinnt bei 30° in ca. 10—12 Stunden,
„ „ „ 40° „ „ 10—12 „
„ „ „ 42° nicht.

Die Wärme von 42° scheint also die Maximaltemperatur für diese Species zu sein, bei welcher einzelne Kulturstämme noch gedeihen, andere freilich nicht mehr. Bei 40° aber wachsen wohl alle Kulturstämme noch recht gut.

---

1) 1,4241 g des lufttrockenen Zinksalzes verloren bei 110° C 0,1853 g an Gewicht und hinterließen beim Glühen 0,4275 g Rückstand. Das Salz enthielt also 13,01 Proz. Krystallwasser und im wasserfreien Zustande 34,5 Proz. ZnO. Die Lösung des Salzes war linksdrehend.

Unser Bacterium casei IV unterscheidet sich also von dem Bacterium lactis acidi, mit dem es sonst in jeder Beziehung übereinstimmt, nur dadurch, daß es bei 40° nicht mehr zu wachsen fähig ist.

Indessen dürfte es wohl nicht zulässig sein, auf Grund dieser Beobachtung die genannten beiden Formen als verschiedene Arten anzusprechen. Wir betrachten sie als identisch und glauben, daß die größere Empfindlichkeit der aus Käse gewonnenen Form gegen höhere Wärmegrade auf eine gewisse Abschwächung zurückzuführen sei, welche dieselbe bei monatelangem Verweilen in dem reifenden und gereiften Käse erfahren haben mochte.

Mit dieser Annahme sind auch die nachstehenden Ergebnisse einiger Versuchsreihen im Einklange, durch welche das Verhalten des Bacterium casei IV und einiger aus saurer Milch gewonnener Kulturstämme des Bacterium lactis acidi gegenüber verschiedenen gärfähigen C-Verbindungen charakterisiert wird.

Bacterium casei IV.

Entzuckerte Bouillon	Nach 14-tägigem Verweilen der Röhrchen im Thermostaten bei 34°		
	Makroskopischer Befund an den Kulturflüssigkeiten	Acidität, bestimmt durch Titration mit $\frac{N}{4}$-Natronlauge in 7 ccm der Kulturflüssigkeit	der sterilen Nährlösung
Zuckerfrei	klar	0,60	0,63
+ Glycerin	klar	0,60	0,60
+ Mannit	Trübung, Bodensatz	1,10	0,75
+ Arabinose	minimale Trübung	0,80	0,80
+ Rohrzucker	klar	0,60	0,60
+ Maltose	Trübung, Bodensatz	1,40	0,80
+ Traubenzucker	desgl.	1,55	0,65

Bacterium lactis acidi.

Stamm 1.

Nährsalzlösung + 1 Proz. Pepton	Nach 8-tägigem Verweilen der Röhrchen im Thermostaten bei 34°		
Zuckerfrei	völlig klar	0,35	
+ Rohrzucker	minimale Trübung	0,35	
+ Milchzucker	Trübung, Bodensatz	1,00	
+ Traubenzucker	desgl.	1,10	

Entzuckerte Bouillon	Nach 14-tägigem Verweilen der Röhrchen im Thermostaten bei 34°		
Zuckerfrei	klar	0,65	0,63
+ Glycerin	minimale Trübung	0,80	0,60
+ Rohrzucker	klar	0,53	0,60
+ Arabinose	minimale Trübung	0,90	0,80
+ Traubenzucker	Trübung, Bodensatz	1,90	0,65

Nährsalzlösung + 1 Proz. Pepton	Nach 14-tägigem Verweilen der Röhrchen im Thermostaten bei 34° — Makroskopischer Befund an den Kulturflüssigkeiten	Acidität bestimmt durch Titration mit $\frac{N}{4}$-Natronlauge in 7 ccm der Kulturflüssigkeit	Acidität bestimmt durch Titration mit $\frac{N}{4}$-Natronlauge in 7 ccm der sterilen Nährlösung
	Stamm 2.		
Zuckerfrei	klar	0,65	0,63
+ Glycerin	minimale Trübung	0,60	0,60
+ Mannit	Trübung, Bodensatz	1,50	0,75
+ Arabinose	minimale Trübung	0,80	0,80
+ Maltose	Trübung, starker Bodensatz	2,15	0,80
+ Rohrzucker	minimale Trübung	0,63	0,60
+ Traubenzucker	Trübung, starker Bodensatz	1,90	0,65
	Stamm 3.		
Entzuckerte Bouillon	Nach 10-tägigem Verweilen der Röhrchen im Thermostaten bei 30°		
Zuckerfrei	klar	0,33	0,38
+ Glycerin	minimale Trübung	0,40	0,40
+ Mannit	Trübung, Bodensatz	1,20	0,38
+ Rohrzucker	minimale Trübung	0,33	0,38
+ Maltose	Trübung, starker Bodensatz	1,55	0,40
+ Milchzucker	desgl.	1,45	0,40
+ Traubenzucker	desgl.	1,60	—
	Stamm 4.		
Zuckerfrei	klar	0,35	0,38
+ Glycerin	schwache Trübung	0,55	0,40
+ Mannit	Trübung, Bodensatz	1,00	0,38
+ Rohrzucker	minimale Trübung	0,40	0,38
+ Maltose	Trübung, Bodensatz	1,65	0,40
+ Milchzucker	desgl.	1,60	0,40
+ Traubenzucker	desgl.	1,80	—
Nährsalzlösung + 1 Proz. Pepton	Nach 20-tägigem Verweilen der Röhrchen im Thermostaten bei 30°		
Zuckerfrei	völlig klar	0,45	0,45
+ Glycerin	minimale Trübung	0,52	0,40
+ Rohrzucker	klar	0,40	0,40
+ Milchzucker	Trübung, Bodensatz	1,20	0,47

Ueberblicken wir nun die sämtlichen hier beschriebenen Bakterienformen, so kann uns die Bemerkung nicht entgehen, daß dieselben eine ganze Reihe wesentlicher Charaktere gemeinsam haben, und zwar mehr in physiologischer als in morphologischer Beziehung.

Alle diese Formen sind unbeweglich. Sporenbildung wurde bei keiner einzigen beobachtet.

Wir können noch hinzufügen, daß sie sämtlich in Deckglastrockenpräparaten, welche nach Gram's Methode hergestellt werden, schön gefärbt erscheinen.

Jedoch müssen wir in morphologischer Beziehung wenigstens 3 verschiedene Formen unterscheiden.

Daß hinsichtlich der Kulturmerkmale eine sehr auffallende Uebereinstimmung unter allen diesen Organismen obwaltet, darauf haben wir schon beim Beginn unserer Mitteilungen hingewiesen. Um uns von dieser Uebereinstimmung eine unmittelbare Anschauung zu verschaffen, haben wir alle diese erwähnten Formen unter denselben Bedingungen gleichzeitig auf Molkegelatine gezüchtet und haben dabei irgend bemerkenswerte Unterscheidungsmerkmale nicht konstatieren können.

In Plattenkulturen treten überall kleine, sofern sie im Innern der Masse des Substrats eingeschlossen sich entwickeln, annähernd kugelförmige, weiße bis weißgelbliche Kolonieen auf, die sich bei Beobachtung unter dem Mikroskop mit schwacher Vergrößerung gewöhnlich als scharf kreisförmig begrenzte, Vollmondsscheiben ähnliche Gebilde darstellen. (Geringe Abweichungen von der Kugelgestalt kommen gelegentlich bei allen diesen Kulturstämmen vor.) Die jüngeren Kolonieen sind weißlich, ältere gelblich durchscheinend. Ihr Inhalt erscheint gleichmäßig hyalin oder fein gekörnt; mitunter kann man hellere und dunklere Partieen unterscheiden, wodurch das Bild der Kolonie noch mehr einer Vollmondscheibe vergleichbar wird. Diese Kolonieen erreichen im günstigsten Falle auf dünnbesäten Platten einen Durchmesser von ca. 1 mm und werden mit zunehmendem Alter völlig undurchsichtig.

Charakteristisch ist es ferner für alle diese Bakterienformen, daß die oberflächlich auf der Gelatineplatte wachsenden Kolonieen kaum merklich größer werden als die in der Tiefe liegenden, in der Masse des Substrats völlig eingeschlossenen. Sie erscheinen als überaus zarte, durchsichtige, weißliche Häutchen, deren Peripherie gewöhnlich nicht scharf kreisförmig, sondern mehr oder weniger zackig, ja oft sogar recht charakteristisch lappig oder strahlig gezeichnet ist.

Nicht selten kann man beobachten, daß einzelne, zwar rings von der Gelatine umschlossene, aber in der Nähe der Oberfläche gelegene kugelige Kolonieen sich über das Niveau der Platte halbkugelig emporwölben und wohl auch die dünne, sie überspannende Gelatinemembran durchbrechen. In diesem Falle kann im Umkreis der undurchsichtigen kugeligen Kolonie eine zarte, weißlich durchsichtige, sehr schmale ringförmige Auflagerung auf der Gelatineoberfläche entstehen, die in ihrer Struktur die Zeichnung der Randpartie ganz oberflächlich gelegener Kolonieen nachahmt, oder kann es geschehen, daß die über das Niveau der Platte hervorgedrungene Kolonie fortfährt, aufwärts zu wachsen und als kleines Hörnchen bis zu 1 mm Höhe emporzustreben.

Schließlich findet man dann noch ganz tiefe in Berührung mit der Glasfläche der Petri-Schale sich entwickelnde Kolonieen, die den völlig oberflächlichen Kolonieen ähnlich sind, nicht größer werden als diese und sie an Zartheit und Durchsichtigkeit womöglich noch übertreffen.

In höchst charakteristischer Weise entwickeln sich alle diese Arten in der Gelatinestichkultur, indem sie im ganzen Stichkanal eine zwar nicht üppige, aber von der Tiefe bis zur Einstichöffnung

herauf gleichmäßig kräftige Vegetation hervorbringen, im Umkreis der Einstichöffnung aber auf der Oberfläche des Substrats sich entweder gar nicht ansiedeln oder nur eine winzig kleine, eben wahrnehmbare, kümmerlich ausgebildete Kolonie entstehen lassen. Hieraus dürfte hervorgehen, daß diese Arten bei Luftbeschränkung besser gedeihen als bei reichlichem Zutritt der Luft[1]), obschon sie keineswegs als obligate Anaërobier zu betrachten sind.

Denn wie sie auf Gelatineplatten oberflächliche, wenn auch kümmerliche Kolonieen erzeugen können, vermögen sie auch in Strichkulturen, bis zu einem gewissen Grade wenigstens, sich zu vermehren. Impft man die Oberfläche schräg erstarrter Gelatine durch einen Strich der infizierten Nadelspitze, so bildet sich auf der bezeichneten Linie eine zarte, mattweiße Vegetation, die auch in längerer Zeit nicht über 1—$1^1/_2$ mm in der Breite an Ausdehnung gewinnt. Wenn die seitlichen, vom Grunde des Kulturröhrchens nach oben hin schwach konvergierenden Ränder eines solchen streifenförmigen Belages, wie es bei älteren Kulturen gewöhnlich der Fall ist, etwas gekerbt erscheinen, kann die ganze langgestreckte Kolonie als ein dem vorderen Körperabschnitt eines Bandwurmes recht wohl vergleichbares Gebilde sich darstellen.

Was die physiologischen Eigenschaften dieser Arten betrifft, so sind sie insgesamt nicht nur dadurch charakterisiert, daß sie in zuckerhaltigen Substraten intensive Säuerung bewirken, sondern auch dadurch, daß sie — beim Wachstum in Milch wenigstens — als ganz vorwiegendes Gärprodukt Milchsäure in sehr reichlicher Menge und neben dieser entweder gar keine Nebenprodukte oder solche nur in ganz geringer Menge erzeugen. Insbesondere wurde eine Produktion freier Gase niemals beobachtet.

Vor allem aber scheint es uns bemerkenswert zu sein, daß diese Organismen sich völlig unfähig erwiesen, in einem Substrat, welches keinerlei für sie gärfähige C-Verbindungen enthält, sich überhaupt zu vermehren. Zuckerfreie peptonhaltige Nährlösungen, die mit unseren Bacillen infiziert und bei günstigen Wärmegraden gehalten wurden, blieben dauernd völlig klar, während in eben denselben Lösungen, sofern sie mit einer geeigneten gärfähigen C-Verbindung versetzt waren, üppige Vermehrung der eingesäten Organismen eintrat.

Diese Beobachtung, die uns für die Einsicht in den Chemismus des Lebensprozesses dieser Bakterien von Bedeutung zu sein scheint, dürfte um so mehr Interesse beanspruchen, als andere milchsäurebildende Arten, wie Bacterium aërogenes und Bact. coli, auch in völlig zuckerfreien Substraten sich zu vermehren imstande sind. Die letztgenannten Organismen erweisen sich denn auch in

---

1) Um den Einfluß eines mehr oder minder reichlichen Luftzutrittes auf die Gärtähigkeit dieser Bakterienformen kennen zu lernen, infizierten wir mit je einer derselben je zwei sterile Milchproben in Kulturröhrchen und gossen den Inhalt je eines Röhrchens in sterile Petri-Schalen aus. Als wir nun diese Milchkulturen bei 30° hielten, trat fast überall die Gerinnung der Milch in den Schalen sehr viel später ein als in den entsprechenden Röhrchen; allein Bacterium casei III aus dem Goudakäse machte eine Ausnahme, indem bei diesem die Gerinnung der Milch in Röhrchen und Schale fast gleichzeitig erfolgte.

anderer Beziehung als durchaus verschieden von den hier beschriebenen Formen, dadurch, daß sie mannigfaltigere Stoffwechselprodukte, insbesondere reichliche Mengen freier Gase erzeugen, durch ihre Kulturmerkmale und vieles andere.

An dieser Stelle sei es uns gestattet, folgendes auszusprechen:

Man kennt gegenwärtig eine überaus große Zahl von Mikroorganismen, welche die Fähigkeit besitzen, die Moleküle der Zuckerarten und einiger diesen nahestehender Kohlenstoffverbindungen unter Bildung von Milchsäure zu spalten. Alle diese ganz vorwiegend den Schizomyceten zugehörenden Mikrobien pflegt man gewöhnlich unter der Bezeichnung „Milchsäurebakterien“ zusammenzufassen.

Es besteht kein Zweifel darüber, daß dieser Name lediglich eine physiologische Gruppe von Bakterien bezeichnet und nicht etwa zugleich eine durch gemeinsame morphologische Eigentümlichkeiten verbundene Sippe: denn es finden sich hier Vertreter aller Formtypen, Kokken, Stäbchen, Spirillen, in zahlreichen Variationen der Wuchsform, bei denen zumeist von einer engeren natürlichen Verwandtschaft nach dem heutigen Stande unserer Kenntnisse nicht wohl die Rede sein kann. Indessen herrscht auch in physiologischer Beziehung unter diesen milchsäurebildenden Bakterienformen eine außerordentliche Mannigfaltigkeit der Charaktere.

Ueberblickt man die ganze Reihe der bisher beschriebenen Arten, auf welche die Bezeichnung „Milchsäurebakterien“ Anwendung findet, so bemerkt man, daß kaum irgend eine andere Eigenschaft allen gemeinsam ist, als eben die Fähigkeit, gewisse Bestandteile ihrer Nährsubstrate dergestalt zu zersetzen, daß dabei Milchsäure — oft neben anderen Produkten — in größerer oder geringerer Menge gebildet wird.

Im übrigen verhalten sich aber die einzelnen Arten in dem Maße verschieden untereinander, daß es durchaus unmöglich erscheint, eine gemeinsame, für alle bekannten milchsäurebildenden Spaltpilzformen auch nur annähernd zutreffende biologische Charakteristik aufzustellen.

Es ist uns daher heute vollkommen verständlich, daß die vielfachen Bemühungen der älteren Gärungschemiker, auf Grund von Beobachtungen an unreinen Gärungsgemischen eine allgemeine Biologie des Milchsäuregärungsfermentes zu schaffen, zu übereinstimmenden Ergebnissen nicht führen konnten. Wenn z. B. auf der einen Seite behauptet wurde, daß Milchsäuregärung nur unter Mitwirkung des atmosphärischen Sauerstoffes vor sich gehen könne, während Andere fanden, daß der Sauerstoff bei diesem Zersetzungsvorgange keine Rolle spiele; wenn man dem Einfluß höherer Temperaturen — von ca. 50° C — bald eine außerordentlich begünstigende, bald eine hemmende oder gar völlig vernichtende Wirkung auf die Thätigkeit des Milchsäurefermentes zuschrieb; wenn einzelne Forscher glaubten, daß bei der Milchsäuregärung eine annähernd glatte Spaltung des Glykosemoleküls in 2 Moleküle Milchsäure erfolge und besonders eine Entwickelung freier Gase dabei vermißten, andere dagegen eine reichliche Bildung von Nebenprodukten, insbesondere von CO_2, dabei beobachteten: so erklären wir uns heute diese voneinander abweichenden Befunde sehr einfach aus der Thatsache, daß es eben sehr viele

verschiedenartige, mit sehr verschiedenen physiologischen Eigenschaften ausgestattete Bakterienarten giebt, die als Erreger spontan auftretender Milchsäuregärungen thätig sein können.

Wenn nun aber eine allgemeine biologische Charakterisierung der „Milchsäurefermente“ zur Zeit und wohl auch für die Folge nicht durchführbar erscheint, so wird es doch nicht ausbleiben, daß bei immer fortschreitender Einsicht in dieses Gebiet Anlaß und Möglichkeit sich darbieten, die jetzt unübersehbare Schar der Arten in kleinere, schärfer umschriebene Gruppen zu sondern.

Daß hierbei zunächst wiederum an Gruppen im physiologischen Sinne gedacht ist, versäumen wir nicht, besonders hervorzuheben.

Indessen dürfte der Versuch, eine solche Gruppierung vorzunehmen, gegenwärtig noch auf unüberwindliche Schwierigkeiten stoßen, weil ein großer Teil der bekannten Arten zu wenig ausführlich beschrieben worden ist. In dieser Erwägung wohl haben die Verff. der neueren Hand- und Lehrbücher der Bakteriologie, sofern sie besondere Abschnitte über die Milchsäuregärung und deren Erreger bringen, darauf verzichtet, einen Versuch in dem angedeuteten Sinne zu unternehmen und haben sich darauf beschränkt, eine Reihe bekannter Arten aufzuführen und von der unter ihnen herrschenden Mannigfaltigkeit der morphologischen und physiologischen Eigentümlichkeiten mehr oder minder ausführliche und übersichtliche Darstellungen zu bieten.

Aus eben derselben Erwägung muß es auch uns durchaus fern liegen, einen solchen Versuch zu wagen. Wir begnügen uns, darauf hingewiesen zu haben, daß die von uns hier vorgeführten Bakterienarten sich vielleicht zu einer engeren physiologischen Gruppe unter den „Milchsäurebakterien“ möchten vereinigen lassen.

Unter den in der Litteratur beschriebenen Arten dürften sich noch mehrere Vertreter dieser Gruppe finden. Wir erinnern an die zahlreichen, von v. Freudenreich in Emmenthalerkäse gefundenen „Milchsäurebakterien“, die nach der kurzen Charakteristik, welche v. Freudenreich von ihnen gegeben hat, zweifellos den hier beschriebenen Formen nahe stehen, wenn sie nicht zum Teil mit diesen identisch sind (cf. oben).

Der Saccharobacillus pastorianus van Laer scheint ferner hierher zu gehören, ebenso ein von Burri[1]) beschriebener Coccus. Unter den pathogenen Bakterien dürften Diplococcus pneumoniae und Verwandte unserer Gruppe nicht ferne stehen.

Ganz eng schließen sich auch die von dem Einen von uns kurz beschriebenen Formen an, welche teils aus Milch, die bei ungewöhnlich hohen Temperaturen (44—52 ° C) freiwillig geronnen war[2]), teils aus den bei 50 ° C gesäuerten Hefewürzen der Brennereien[3]) isoliert wurden, Micrococcus lactis acidi, Bacillus lactis acidi

---

1) Centralbl. f. Bakt. etc. 2. Abt. Bd. IV. 1898. p. 608.

2) Leichmann, Ueber die freiwillige Säuerung der Milch. (Milchzeitung. 1896. p. 65.)

3) Leichmann, Ueber die im Brennereiprozeß bei der Bereitung der Kunsthefe auftretende spontane Milchsäuregärung. (Centralbl. f. Bakt. etc. 2. Abt. Bd. II. 1896. p. 281.)

und Bacillus Delbrücki; diese dürften vielleicht als eine besondere Untergruppe charakterisiert werden, indem ihr Temperaturoptimum ungewöhnlich hoch gelegen ist.

Als eine weitere Untergruppe könnte man einige Formen anschließen, die, wie Bacillus pabuli acidi III Weiß (siehe l. c.) und der von dem Einen von uns kurz beschriebene linksmilchsäurebildende Coccus[1]), aus spontan geronnener Milch durch eine mäßige Produktion von freier CO_2 beim Wachstum in Milch ausgezeichnet sind.

Bei der großen Uebereinstimmung, welche unsere Bakterien im allgemeinen in physiologischer Hinsicht erkennen lassen, muß es auffallen, daß in ihrem Verhalten zu verschiedenen vergärbaren C-Verbindungen im einzelnen mancherlei bemerkenswerte Verschiedenheiten hervortreten. Wir kommen hierauf noch mit einigen Worten zurück.

Aus den mitgeteilten Versuchsergebnissen geht hervor, daß alle diese Organismen unter den für sie angreifbaren Substanzen, den Traubenzucker am leichtesten und kräftigsten, sodann mit etwas geringerer Stärke Milchzucker ebensowohl als Maltose vergären. Jedoch darf nicht unerwähnt bleiben, daß die aus Rübenschnitzeln stammenden Bacterium pabuli acidi I und II Weiß eine Ausnahme insofern machen, als das erste in Milchzuckerlösung erheblich mehr Säure bildet als in Maltoselösung, das andere dagegen in Maltoselösung mehr als in Milchzuckerlösung.

Mannit wird von unseren Mikrobien mit bemerkenswerter Energie, wenn auch meist schwächer als die letztgenannten Zuckerarten, zersetzt und ist allein für Streptococcus casei unangreifbar.

Wir heben ferner hervor, daß in glycerinhaltigen Nährflüssigkeiten hie und da eine ganz geringfügige Vermehrung der eingesäten Organismen und eine sehr schwache Säuerung konstatiert wurde; sodann, daß Arabinose in allen Fällen durchaus intakt blieb.

Von besonderem Interesse scheint uns der Umstand zu sein, daß Rohrzucker für die Mehrzahl der erwähnten Bakterienformen völlig oder fast völlig unvergärbar ist, und daß unter ihnen allein die beiden in gesäuerten Rübenschnitzeln vorkommenden Arten, Bacterium pabuli I und II Weiß, das Molekül des Rohrzuckers energisch zu spalten vermögend sind.

Hier sei es uns gestattet, die folgenden Bemerkungen anzuknüpfen.

Es ist bekannt, daß mancherlei verschiedenartige, in der Natur vorkommende Gemenge organischer Stoffe als Substrat der Milchsäuregärung dienen können und daß gewisse Nahrungsmittel und manche technische Produkte organischen Ursprungs regelmäßig eben dieser Gärung anheimfallen, wenn sie in rohem Zustand ohne Schutz gegen die zerstörende Thätigkeit der Mikroorganismen einige Zeit sich selbst überlassen oder gar absichtlich unter besonderen Umständen aufbewahrt werden, welche erfahrungsmäßig das Eintreten eben jenes charakteristischen Zersetzungsvorganges zu befördern geeignet sind. Saure Milch, Sauerteig, Sauerkraut, die milchsauren

---

1) Leichmann, Ueber die freiwillige Säuerung der Milch. (Centralbl. f. Bakt. etc. 2. Abt. Bd. II. 1896. p. 777.)

Hefewürzen der Brennereien, umgeschlagene Biere, freiwillig gesäuerte Rübenschnitzel sind dergleichen Erzeugnisse, welche ihre eigenartige, sie von den Rohprodukten, aus denen sie entstehen, unterscheidende Beschaffenheit ganz oder zum Teil durch Milchsäuregärung erlangen.

Alle diese genannten Stoffe sind bakteriologisch untersucht worden und man hat in den verschiedenen Stoffen verschiedene Mikroorganismen als Erreger der Gärung angetroffen.

Bei wiederholt vorgenommenen Untersuchungen aber hat man gefunden, daß in einem und demselben eigenartigen Stoffe gewöhnlich dieselben Bakterienformen als vorherrschende Gärungserreger aufzutreten pflegen: so in der Milch Bacterium lactis acidi[1]) Leichmann, im Sauerteig und Sauerkraut bestimmte, von Lehmann, Wolffin und Conrad beschriebene Organismen, die der Gruppe des Bacillus coli angehören, in umgeschlagenen Bieren Saccharobacillus pastorianus, in den Kunsthefewürzen der Brennereien Bacillus Delbrücki, in den gesäuerten Rübenschnitzeln Bacterium pabuli acidi I und II.

Da man wohl voraussetzen darf, daß im allgemeinen die Keime der verschiedenartigsten Gärungserreger überall in der Natur verbreitet seien, müssen jene Befunde auffällig erscheinen und eine befriedigende Erklärung ist bisher dafür nicht gefunden worden.

Man nimmt gewiß mit Recht an, daß an solchen Plätzen, wo bestimmte eigenartige Stoffe der erwähnten Art regelmäßig gewonnen, erzeugt oder aufbewahrt werden, eine Lokalisation bestimmter gärungserregender Mikroorganismen statthabe, und zwar eben solcher Organismen, denen die in den betreffenden Substraten gebotenen Ernährungsbedingungen besser als anderen ähnlich wirkenden Formen zusagen.

Worin aber die eigenartigen Ernährungsbedingungen bestehen, von deren Vorhandensein oder Nichtvorhandensein es abhängig ist, ob die eine oder die andere milchsäurebildende Species sich in einem Substrat ansiedele und regelmäßig zu vorwiegender Entwickelung gelange, darüber hat man bisher eine klare Vorstellung nicht gewinnen können.

Auf Grund unserer erwähnten Beobachtungen glauben wir annehmen zu dürfen, daß dieses in erster Linie von der Natur der in den genannten Nährmedien vorhandenen gärfähigen C-Verbindungen

1) Kozai (Zeitschr. f. Hyg. 1899. p. 372) will diese Species „im Hinblick auf ihre physiologische Rolle und, um Verwechselungen auszuschließen, als Bacillus acidi paralactici, Bacillus der Rechtsmilchsäure“, bezeichnen.

Da wir bereits eine sehr große Zahl Rechtsmilchsäure bildender Bacillen kennen, dürfte dieser Name einen Schutz vor Verwechselungen nicht gewähren. Auch charakterisiert derselbe nicht die wichtige physiologische Rolle, welche unser Bakterium als Erreger der spontanen Säuerung der Milch spielt.

Wenn es aber wünschenswert ist, daß ein so allgemein verbreitetes und wichtiges Mikrobium einen charakteristischen Namen führe, so möchte nach wie vor der Name „Bacterium lactis acidi“ = „Bakterium der sauren Milch“, vor allen anderen Bezeichnungen dieses mit Namen so reich bedachten Mikrobiums den Vorzug verdienen. Daß Marpmann diese Benennung schon früher für eine andere, bei der freiwilligen Säuerung der Milch jedenfalls nur in sehr untergeordnetem Maße beteiligte und überdies nach seiner Beschreibung nicht mehr wiederzufindende Species gebraucht hat, dürfte wohl nicht in Betracht kommen.

abhängig ist; denn hinsichtlich ihrer Ansprüche an mineralische Salze und N-Verbindungen hat sich unter den hier in Frage kommenden Organismen ein auffallender Unterschied nicht erkennen lassen.

Ferner wird in einem Substrat, welches eine für viele verschiedene säuerungserregende Bakterienarten wohl angreifbare Zuckerart enthält, diejenige Form gewöhnlich ganz vorwiegend zur Entwickelung und zur Herrschaft gelangen, welche diesen Zucker leichter und unter den gegebenen Verhältnissen rascher als andere zu vergären befähigt ist.

Bacterium lactis acidi ist, wie wir uns überzeugt haben, nicht allein in Milch und Milchprodukten, sondern auch sonst in der Natur außerordentlich verbreitet: denn wir haben beobachtet, daß sterilisierte Milch, welche wir mit Staub verschiedener Herkunft infiziert oder mit Gegenständen verschiedener Art in Berührung gebracht hatten, häufig in gewöhnlicher Weise ohne nennenswerte Gasentwickelung gerann und daß sich meist vorwiegend Bacterium lactis acidi darin entwickelte.

Wir hegten daher früher die Vermutung, daß diese Species, die so regelmäßig das Sauerwerden der Milch verursacht, sich wohl auch vielfach in anderen zuckerhaltigen Substraten als Erreger von Milchsäuregärung finden möchte und wir waren überrascht, als Weiß bei seinen im hiesigen Institut ausgeführten Untersuchungen dieselbe in säuernden Rübenschnitzeln überhaupt nicht antraf.

Dieser negative Befund erscheint jetzt aber vollkommen erklärlich durch den Nachweis, daß Bacterium lactis acidi den Rohrzucker gar nicht anzugreifen vermag und völlig unfähig ist, sich in einem Substrat überhaupt zu vermehren, welches außer dem Rohrzucker andere vergärbare C-Verbindungen nicht enthält. Ebenso wie Bacterium lactis acidi sind auch die anderen von uns beschriebenen Bakterienarten nicht imstande, den Rohrzucker zu vergären mit Ausnahme eben jener beiden Formen, welche in den freiwillig säuernden Rübenschnitzeln selbst gefunden wurden, Bacterium pabuli acidi I und II, die, wie Weiß gezeigt hat, in rohrzuckerhaltigen Substraten eine energische Milchsäuregärung hervorrufen.

Wenn wir andererseits sahen, daß der Milchzucker für alle unsere Mikrobien ohne Ausnahme recht wohl angreifbar ist, muß es befremdend erscheinen, daß man bei der freiwilligen Säuerung der Milch keine dieser Arten, sondern immer nur Bacterium lactis acidi hat nachweisen können. Jedoch ist auch diese Thatsache begreiflich, wenn man erwägt, daß die zuletzt genannte Form den Milchzucker schneller als andere vergärt, wie denn überhaupt keine Bakterienart bekannt geworden ist, welche die Koagulation der Milch unter den gewöhnlichen Umständen auch nur annähernd ebenso rasch und energisch als eben diese zu bewirken vermögend wäre. Dieses gilt aber, wie gesagt, nur, wenn die Gerinnung der Milch unter gewöhnlichen Umständen, d. h. bei mittleren Wärmegraden, allenfalls bis zu 40° C herauf, erfolgt. Indessen tritt gewöhnlich auch dann noch freiwillige Säuerung (und zwar Milchsäuregärung) in Milch ein, wenn man dieselbe bei 44—52° C hält. Hierbei kann Bacterium lactis acidi,

welches schon bei 42° kümmerlich gedeiht, nicht als Gärungserreger thätig sein, wie es die Erfahrung bestätigt, indem sie lehrt, daß die bei 44—52° C erfolgende Milchsäuerung durch 2 andere, bei hohen Temperaturen rasch wachsende Arten, Micrococcus lactis acidi Leichmann und Bacillus lactis acidi Leichmann veranlaßt wird.

Eine andere, von diesen beiden verschiedene Form, Bacillus Delbrücki, deren Wachstumsoptimum ebenfalls bei so hohen Wärmegraden liegt, bewirkt dagegen die bei 50° C erfolgende freiwillige Säuerung der Hefewürzen. Daß diese letztere, obgleich sie gewiß in der Natur sehr verbreitet ist, sich bei der freiwilligen Säuerung der Milch in hoher Wärme nicht beteiligt, ist sehr wohl begreiflich; denn sie vermag sich in der Milch überhaupt nicht zu vermehren, indem sie völlig außer stande, ist, den Milchzucker anzugreifen [1]).

Weniger leicht verständlich ist der Umstand, daß jene beiden in Milch, die bei hoher Temperatur freiwillig gesäuert war, beobachteten Formen in der bei 50° spontan säuernden Hefewürze nicht zu merklicher Entwickelung gelangen, obwohl sie die Maltose recht wohl zu zersetzen befähigt sind. Ob dieses vielleicht darauf zurückzuführen sei, daß Bacillus Delbrücki diese Zuckerart rascher und energischer als die beiden anderen angreift, ist uns nicht bekannt, und es wäre noch zu prüfen, ob diese Vermutung das Richtige trifft.

Schließlich bliebe uns noch mit Rücksicht auf den besonderen Gegenstand unserer vorliegenden Mitteilungen die Frage zu erörtern übrig, weshalb in Käsen gerade die von uns beobachteten Arten von Milchsäurebakterien zu vorwiegender Entwickelung gelangen konnten. Indessen sind wir nicht in der Lage, auf diese Frage eine irgend befriedigende Antwort zu geben.

Schon v. Freudenreich hat darauf aufmerksam gemacht, daß sich in Käsen eine ganze Reihe von Milchsäurebakterien entwickelt, die man in freiwillig säuernder Milch nicht findet. Wahrscheinlich sind einzelne von ihm besonders häufig und zahlreich beobachtete Arten mit den hier beschriebenen identisch (wie sein Bacillus α mit unserem Bacterium casei I, cf. oben p. 247); fast alle von ihm erwähnte Formen aber scheinen der hier gekennzeichneten Gruppe von Milchsäurebakterien sehr nahe zu stehen.

Nach v. Freudenreich sollen sich diese Organismen während des Reifungsprozesses der Käse sehr stark vermehren und sie sollen, wie er glaubt, die vorwiegenden Erreger derjenigen chemischen Veränderungen sein, welche die frische Käsemasse während der Reifung erleidet. Als Stütze für diese Behauptung führt v. Freudenreich die Beobachtung an, daß diese Formen, wenn sie in Milch, die mit $CaCO_3$ zur Neutralisierung der entstehenden Säure versetzt ist, längere Zeit kultiviert werden, aus dem Caseïn der Milch ähnliche Zersetzungsprodukte erzeugen, wie sie bei der Käsereifung aus dem Paracaseïn entstehen.

---

1) Leichmann, Ueber die im Brennereiprozeß bei der Bereitung der Kunsthefe auftretende spontane Milchsäuregärung. (Centralbl. f. Bakt. etc. 2. Abt. Bd. II. 1896. p. 281.)

Hierbei möchte jedoch zu bedenken sein, daß die Bedingungen, welche diese Organismen in der Käsemasse finden, völlig verschieden von denjenigen Bedingungen sind, wie sie bei jenen Versuchen obwalteten.

Insbesondere weisen wir auf den Mangel des Milchzuckers hin; denn dieser Bestandteil der frischen Käsemasse soll nach Jensen[1]) sehr frühzeitig der Zersetzung anheimfallen und bei den Emmenthalerkäsen wenigstens soll schon am 5. Tage nach Herstellung der Käse keine Spur davon mehr nachweisbar sein.

Somit wäre es denn auch nicht wohl denkbar, daß die Milchsäurebakterien der hier besprochenen Gruppe, welche ohne eine passende C-Verbindung im Nährsubstrat überhaupt nicht zu wachsen vermögen, sich von dem genannten Zeitpunkt ab im Käse weiter vermehren könnten; es sei denn, daß während des Reifungsprozesses aus den Eiweißstoffen der Käsemasse gärfähige C-Verbindungen durch die Thätigkeit anderer Organismen abgespalten würden.

Vielleicht sind aber auch die von v. Freudenreich als Erreger der Käsereifung besonders in Anspruch genommenen Formen von Milchsäurebakterien imstande, ohne Gegenwart gärfähiger C-Verbindungen im Nährsubstrate sich zu vermehren.

Wir müssen uns damit begnügen, auf diese Schwierigkeiten hingewiesen zu haben, und möchten zum Schlusse noch einer Beobachtung gedenken, die wir im Verlauf unserer Untersuchungen zu machen Gelegenheit hatten, die aber weiter zu verfolgen uns zur Zeit nicht möglich war.

Nachdem wir unsere Bakterien ca. 2 Jahre lang, teils auf Molkegelatine, teils auf Fleischwassergelatine oder -agar gezüchtet hatten, bemerkten wir zunächst an den Fleischwassergelatinekulturen des Bacterium casei III aus dem Goudakäse eigentümliche, bis dahin nicht beobachtete Erscheinungen.

Von der im Stichkanal der Gelatinestichkultur zunächst in normaler Weise ausgebildeten, drahtförmigen oder fadenförmigen Kolonie sahen wir jetzt zahllose, äußerst feine wurzelförmige Aestchen in die umgebende Masse der Gelatine ausstrahlen, in ähnlicher Weise, wie man es bei gewissen obligat aëroben Arten beobachtet hat, wo die ganze Kolonie dadurch das Bild eines umgekehrten Tannenbäumchens annimmt. Indem hier aber diese Ausstrahlungen sich in der ganzen Länge des Stichkanals in gleichmäßiger Länge und Stärke bildeten, gewann die ganze Kolonie eine Gestalt, die man etwa durch das Bild einer Cylinderbürste bezeichnen kann.

Ferner zeigten sich auch an den Strichkulturen auf schräg erstarrter Fleischwassergelatine ähnliche Erscheinungen. Es bildete sich zunächst auf der mit der Impfnadelspitze infizierten Linie in normaler Weise eine zarte Vegetation von der Form einer Blattrippe; in der Folge aber sah man von dieser äußerst feine, dichtgedrängte Verzweigungen nach beiden Seiten ausstrahlen, derart, daß die ganze Kolonie etwa dem Bilde eines sehr schmalen, länglichen, überaus fein gefiederten Blattes vergleichbar erschien.

---

1) Centralbl. f. Bakt. etc. 2. Abt. Bd. IV. 1898. p. 217.

Die Molkegelatinestichkulturen hatten das gewöhnliche Aussehen, doch zeigte sich auf der Oberfläche im Umkreis der Einstichöffnung eine ungemein zarte Vegetation von geringer Ausdehnung. In der Molkegelatinestrichkultur bildete sich die sonst schmal-streifenförmige, blattrippenähnliche Kolonie etwas mehr in die Breite aus, ohne aber haarförmige Ausstrahlungen wie bei den Fleischwassergelatinestrichkulturen erkennen zu lassen.

Besonders merkwürdig war jedoch der Umstand, daß, als jetzt Gelatineplatten mit Impfstoff von unseren Kulturen infiziert wurden, 2 ganz verschiedenartige Formen von Kolonieen, beide ungefähr in derselben Anzahl, augenfällig hervortraten. Die einen hatten die normale Gestalt und Größe der Kolonieen, wie wir sie oben als charakteristisch für die Arten dieser Gruppe beschrieben haben: kleine, stecknadelkopfförmige Gebilde, sofern sie ganz in der Masse des Substrates eingebettet lagen, und ebenso kleine, aber äußerst zarte, durchsichtige, unregelmäßig kreisförmig begrenzte Häutchen, sofern sie oberflächlich gelegen waren. Die anderen Kolonieen waren erheblich größer, etwa 3—4mal so groß als jene und zeigten vollkommen das Aussehen ganz junger Schimmelpilzkolonieen, da sie aus ungemein zarten, von einem Centrum ausstrahlenden, vielfach verzweigten Fäden bestanden. Und zwar zeigten die in der Masse des Substrats eingebetteten Kolonieen dasselbe Bild wie die oberflächlich gelegenen. Auf einer sehr dünn besäten Platte erreichte eine vereinzelte, aus der Tiefe an die Oberfläche durchdringende Kolonie dieser Art im Laufe etwa eines Monats eine außerordentliche Größe, von etwa 30 mm im Durchmesser. So die Fleischwassergelatine-Plattenkulturen.

Auf Molkegelatineplatten sah man mit bloßem Auge nur anscheinend normale kleine Kolonieen. Unter dem Mikroskop aber zeigten viele von diesen Kolonieen eine minder regelmäßige Kreisform als die anderen und überdies spärliche, zarte, kurze, fadenförmige Ausläufer am Rande.

Gelatinestichkulturen, welche mit Impfstoff von den normalen Kolonieen infiziert wurden, entwickelten sich in der gewöhnlichen Weise; die mit Impfstoff von den abnormen Kolonieen infizierten Stichkulturen nur anfangs ebenso: allmählich sah man von der im Stichkanal gewachsenen, dick-fadenförmigen Kolonie feine, haarartige Ausstrahlungen in die umgebende Masse der Gelatine vordringen, wodurch die Kolonie, wie die vorher schon geschilderten abnormen Kolonieen der Gelatinestichkulturen, das Aussehen eines Cylinderbürstchens annahm.

Die so verschiedenartig entwickelten Kolonieen enthielten alle Stäbchen von derselben Form; doch waren in den abnormen Kolonieen längere Stäbchen vorherrschend, die auch häufiger in Kettenverbänden auftraten als die meist kürzeren Stäbchen der normalen Kolonieen.

In steriler Milch riefen die Stäbchen der abnormen Kolonieen in derselben Zeit Gerinnung hervor als diejenigen der normalen Kolonieen. In Traubenzuckerbouillon aber bildeten die ersteren lediglich einen Bodensatz am Grunde der übrigens klar bleibenden Flüssigkeit, während die anderen, wie es bei dieser Species sonst gewöhnlich der Fall war, eine diffuse Trübung der Bouillon hervorriefen. Beide

Formen erregten in Milch wie in Traubenzuckerbouillon starke Säuerung ohne Gasentwickelung.

Wir bemerken noch, daß die beiden von uns geführten Kulturstämme des Bacterium casei III aus dem Goudakäse diese hier beschriebenen Erscheinungen in derselben Weise zeigten.

Bei Bacterium casei I des Emmenthaler- und Bacterium caseï II des Chesterkäses (welche wir für identisch halten) sahen wir nach lange fortgesetzter Züchtung in Gelatine ebenfalls an den Kolonieen im Stichkanal der Gelatinestichkulturen nebenwurzelförmige Ausläufer sich bilden und oft weit in die Masse der Gelatine hinein vordringen, die aber nicht so dicht gedrängt als beim Bacterium casei III, sondern zerstreut auftraten, auch nicht so zart wie dort, vielmehr derb und dadurch besonders ausgezeichnet waren, daß sie äußerst zierlich und regelmäßig spiralfederartig gewunden erschienen, was man mit bloßem Auge recht gut, sehr schön mit Lupe und Mikroskop wahrnehmen konnte.

Die mit Impfstoff aus solchen Kulturen infizierten Gelatineplatten ergaben lediglich ganz normal ausgebildete Kolonieen.

Schließlich haben wir auch bei Bacterium lactis acidi gelegentlich ungewöhnliche Erscheinungen konstatieren können, indem wir an einer Fleischwassergelatinestichkolonie dieser Species schwache, in die umgebende Masse des Nährsubstrats vordringende Ausstrahlungen beobachteten.

Als wir mit Impfstoff von dieser Kolonie Gelatineplatten infizierten, bemerkten wir, daß unter völlig normalen, an Zahl weit vorherrschenden Kolonieen sich auch einzelne ungewöhnliche Kolonieen ausbildeten. Diese waren nicht größer als die normalen Kolonieen, erschienen aber unter dem Mikroskop nicht wie jene als scharf kreisförmige homogene Scheiben, sondern als überaus zierliche, aus feinsten Fäden locker gewundene Knäuelchen oder als vielstrahlige Sternchen.

Da wir in diesen Kolonieen lange schlanke Stäbchen fanden, glaubten wir zunächst eine fremdartige Form, die als Verunreinigung in unsere Kultur gelangt wäre, vor uns zu haben. Indessen lösten sich diese vermeintlichen Langstäbchen bei Betrachtung mit sehr starken Vergrößerungen in kettenförmig verbundene ovale Kurzstäbchen von der typischen Form des Bacterium lactis acidi auf, bei denen freilich die Zellgrenzen sehr wenig deutlich waren.

In Gelatinestichkulturen wuchsen diese Stäbchen anfangs ganz ebenso wie das normale Bacterium lactis acidi und erzeugten eine dick fadenförmige Kolonie im Stichkanal; allmählich sah man aber den Faden mit feinen dichtgedrängten, in die umgebende Masse der Gelatine hineinwachsenden Fasern sich umgeben, so daß die Kolonie nunmehr das Aussehen einer Chenilleschnur annahm.

In Traubenzuckerbouillon bewirkten diese Organismen Trübung und Säuerung; in Milch brachten sie bei 34° erst im Verlauf einiger Wochen Gerinnung hervor.

Sie zeigten in allen Kulturen oft unverkennbare Involutionsformen und gewährten, besonders in gefärbten Präparaten, das Bild degenerierter Zellen.

14. Februar 1900.

Ueber das in der Milch vorhandene unorganisierte Ferment, die sogenannte Galaktase.

Von Dr. **Ed. v. Freudenreich** [1]).

In einer sehr interessanten vor 2 Jahren publizierten Arbeit haben Babcock und Russell [2]) über das Vorhandensein eines unorganisierten Fermentes in der Milch berichtet. Die Verfasser haben gezeigt, daß in Milch, der man Aether oder Chloroform in genügender Menge zusetzt, um jede bakterielle Thätigkeit zu verhindern, der Gehalt an gelösten stickstoffhaltigen Substanzen stetig wächst. Auch isolieren ließ sich dieses Ferment, und das isolierte Ferment zeigte die gleichen lösenden Eigenschaften. So steigerte sich z. B. in Versuchen der H. H. Babcock und Russell der anfängliche Gehalt frischer Milch an löslichen, stickstoffhaltigen Substanzen von ca. 0,08 Proz. bis auf 0,36 Proz. nach 300 Tagen. Ein so kräftiges Enzym dürfte nach Ansicht der Verfassers auch bei der Reifung des Käses eine wichtige Rolle spielen, indem ihm die Aufgabe zufiele, das Caseïn in lösliche Formen überzuführen.

Diese Versuche scheinen bisher noch nicht nachgeprüft worden zu sein; man könnte sogar glauben, daß viele Forscher dieser Mitteilung gegenüber sich etwas skeptisch verhalten. Bei der Wichtigkeit der Sache dürften daher einige Versuche, die ich anstellte, um diese Angaben zu kontrollieren, einiges Interesse beanspruchen. Man wird sehen, daß meine Resultate die Existenz eines solchen Enzymes bekräftigen. Eine andere Frage freilich ist die, ob es wirklich bei der Käsereifung eine so wichtige Rolle spielt, wie Babcock und Russell annehmen. Diese letztere Frage wird Gegenstand einer demnächst erscheinenden Arbeit meines Assistenten, Herrn Orla Jensen, sein.

Vor allem drängt sich die Frage auf, ob in mit Aether versetzter Milch jedes Bakterienwachstum ausgeschlossen ist. Babcock und Russell setzten der Magermilch 10—12 Proz. Aether oder Chloroform zu, bei Anwendung von Fettmilch 20—25 Proz., weil hier das Fett einen Teil des Aethers unwirksam macht. Obwohl genaue Versuche über die hierdurch erlangte Sterilität der Milch nicht speziell aufgeführt werden, scheint die Annahme der amerikanischen Forscher daß ein so hoher Aethergehalt ein Wachstum von Bakterien unmöglich mache und daß höchstens resistente Sporen am Leben bleiben, wohl zuzutreffen. Durch folgende Versuche konnte ich mir darüber Gewißheit verschaffen.

Versuch 1. Magermilch mit 12 Proz. Aether.

Nach	3	Tagen	Impfung	eines Tropfens	in Bouillon:	Steril.
"	4	"	"	"	:	"
"	5	"	"	"	:	"
"	9	"	"	"	:	"

1) Arbeit aus dem bakt. Laboratorium der schweiz. landw. Versuchs- und Untersuchungsanstalt in Bern.

2) Centralbl für Bakt. 2. Abt. Bd. III. p. 615.

Versuch 2. Magermilch mit 10 Proz. Aether.

Nach 1 Tage Impfung von 2 Bouillonkolben mit je 1 Tropfen	1 Kolben bleibt steril. 1 Kolben giebt Heubacillen.
Nach 2 Tagen Impfung von 2 Bouillonkolben mit je 1 Tropfen	die 2 Kolben bleiben steril.
Nach 3 Tagen Impfung von 2 Bouillonkolben mit je 1 Tropfen	1 Kolben steril. 1 Kolben giebt Heubacillen.
Nach 7 Tagen Impfung von 2 Bouillonkolben mit je 1 Tropfen	1 Kolben steril. 1 Kolben giebt Heubacillen.
Nach 17 Tagen Impfung von 2 Bouillonkolben mit je 1 Tropfen	beide Kolben bleiben steril.

Bei den meisten späteren Experimenten wurde die Milch vor ihrer chemischen Untersuchung auf ihre Sterilität geprüft. Immer waren die Resultate die gleichen, d. h. zuweilen blieben die Kulturen steril, zuweilen entwickelten sich Heubacillen. Auch direkte mikroskopische Präparate wurden gemacht. Stets sieht man nur ganz vereinzelte, meist sich schlecht färbende Bakterien, oft auch gar keine. Ich werde daher nicht bei jedem der anzuführenden Versuche die Resultate der bakteriologischen Untersuchung angeben. Daß jede Bakterienentwickelung durch einen solchen Aetherzusatz gehemmt wird, zeigte auch ein Versuch, in welchem Bouillon, die mit Tyrothrix tenuis-Sporen reichlich infiziert worden war und einen Zusatz von 10 Proz. Aether erhalten hatte, dauernd klar blieb. Mit bloß 1, 2 und 4 Proz. Aether dagegen gerann die Milch unter Säurebildung. Ich habe daher bei Anwendung von Magermilch stets 10—20 Proz. Aether zugesetzt. Die Milch wurde in gut verschlossenen Flaschen teils bei Brut-, teils bei Zimmertemperatur gehalten.

Nach einiger Zeit, gewöhnlich nach einigen Wochen, schneller bei hoher, als bei niedriger Temperatur, sieht man nun eine eigentümliche Veränderung in der Milch vor sich gehen. Das Caseïn scheidet sich flockenartig aus, nimmt eine gelatinöse Beschaffenheit an, fällt zu Boden und es bleibt ein gelbliches, durchscheinendes Serum auf der Oberfläche; zuweilen schwimmt auch das Caseïn auf dem Serum. Die Reaktion der Milch ändert sich nicht. Solche Milchproben wurden nun nach verschiedenen Zeiten auf ihren Gehalt an löslich gemachten Proteïnstoffen untersucht. Zu diesem Zwecke bediente ich mich in einer Serie von Versuchen der gleichen Methode wie Babcock und Russell, d. h. nach Ansäuerung der Milch mit Essigsäure, Aufkochen derselben, Filtrieren und Bestimmung des Stickstoffgehaltes nach Kjeldahl in einem aliquoten Teil des Filtrates. In einer anderen Serie von Versuchen bediente ich mich eines Chamberland'schen Filters. Das löslich gemachte Caseïn geht bekanntlich, wie Duclaux gezeigt hat, durch ein solches Filter; in einem aliquoten Teile des Filtrates wird dann der Stickstoffgehalt nach Kjeldahl bestimmt.

Versuche mit dem Chamberland'schen Filter.

Versuch 1. Mehrere Flaschen Magermilch mit $12\frac{1}{2}$ Proz. Aether werden bei Zimmertemperatur aufgestellt. Die Kontrollmilch auf ihren Gehalt an löslichem Stickstoff[1]) untersucht, giebt 0,046 Proz. N

1) Ich gebrauche diesen Ausdruck der Kürze halber statt Stickstoff der löslich gemachten Proteïnstoffe.

Nach einem Monate ist makroskopisch noch keine Aenderung wahrnehmbar. Man untersucht eine Flasche und findet 0,05 Proz. löslichen N. Die Flaschen werden nun in den Brütofen gethan. Nach 14 Tagen, flockenartige, gelatinöse Ausscheidung des Caseïns, 0,08 Proz. löslichen N. Nach weiteren 6 Wochen findet man 0,24 Proz. löslichen N.

Versuch 2. Magermilch mit 10 Proz. Aether. Zimmertemperatur. Nach 1 Monat keine sichtbare Veränderung. Darauf Bruttemperatur. Nach etwas über 6 Wochen flockenartige gelatinöse Ausscheidung des Caseïns; 0,26 Proz. löslichen N.

Versuch 3. Mehrere Flaschen Magermilch mit 10 Proz. Aether. Bruttemperatur. Alle Flaschen verändern sich allmählich in der gewohnten Weise (nach ca. 6 Wochen).

Nach 2 Monaten 0,253 Proz. löslichen N.

Nach 8 „ 0,392 Proz. löslichen N und 0,065 Amid-N.

Hier wurde auch der Stickstoff der Eiweißzersetzungsprodukte bestimmt, der in frischer Milch ca. 0,02 bis 0,03 Proz. beträgt. Nach 8 Monaten hat er sich also etwas vermehrt. Bezüglich der Methode (Fällung der Eiweißstoffe durch Phosphorwolframsäure) verweise ich auf die im landwirtschaftlichen Jahrbuch der Schweiz, 1899 p. 169 erschienene Arbeit.

Versuch 4. Magermilch mit 10 und 20 Proz. Aether. Bruttemperatur. Nach 3 Wochen beginnende Zersetzung in den Flaschen mit 20 Proz. Aether. Die Serie mit 10 Proz. Aether noch unverändert; nach weiteren 10 Tagen gleiche Zersetzung in dieser letzteren.

Nach $5^1/_2$ Monaten, Untersuchung je einer Flasche mit 10 und 20 Proz. Aether.

Milch mit 10 Proz. Aether: 0,34 Proz. löslichen N.
„ „ 20 „ „ 0,35 „ „ N.

Dieser Versuch zeigt, daß die Menge des zugesetzten Aethers das gelatinöse Aufquellen des Caseïns zwar begünstigt, jedoch ohne Einfluß auf seine Auflösung ist. Ein späterer Versuch beweist dies noch deutlicher.

Nach Babcock und Russell wirkt Salzsäure abschwächend auf dieses Enzym. Das Gleiche habe ich für Milchsäure gefunden, wie folgender Versuch zeigt:

Versuch 5. Kontrollmilch mit 20 Proz. Aether. Nach 8 Monaten 0,309 Proz. löslichen N.

Gleiche Milch, mit 20 Proz. Aether und 1 ‰ Milchsäure. Nach 8 Monaten 0,308 Proz. löslichen N.

Gleiche Milch mit 20 Proz. Aether und 3 ‰ Milchsäure. Nach 8 Monaten 0,177 löslichen N.

Gleiche Milch, mit 20 Proz. Aether und 5 ‰ Milchsäure. Nach 8 Monaten 0,114 Proz. löslichen N.

Auch makroskopisch war ein Unterschied bemerkbar. Während die Milch mit 1 ‰ Milchsäure ein klares durchscheinendes Serum gab mit relativ dünner Caseïnschicht, war in der Milch mit 3 ‰ Milchsäure die Caseïnschicht dicker und das Serum schmutzig-gelb.

Die Milch mit 5 ‰ hatte eine noch dickere Caseïnschicht und ein grünliches Serum [1]).

Versuche mit der Essigsäuremethode.

Die Versuche wurden gewöhnlich auf folgende Weise ausgeführt: 50 ccm Milch, mit 10 oder 20 Proz. Aether versetzt, werden in einem gut verschlossenen Meßkolben von 250 ccm aufbewahrt. Bei der Untersuchung kocht man zunächst eine Zeit lang vorsichtig im Wasserbade zur Vertreibung des Aethers. Nach Abkühlen setzt man ca. 100 ccm Wasser hinzu und giebt tropfenweise von einer 1-proz. Essigsäurelösung, bis eine Ausscheidung des Caseïns erfolgt, dann wird wiederum gekocht, nach Abkühlung bis zur Marke aufgefüllt, filtriert und in einem aliquoten Teile des Filtrates der Stickstoff nach Kjeldahl bestimmt. Man könnte vielleicht befürchten, daß die Essigsäure allein eine Auflösung das Caseïns herbeiführen könnte. Wenn man vorsichtig operiert, ist dieses jedoch nicht der Fall, denn selbst bei Anwendung der zweifachen Menge der Essigsäurelösung, die nötig ist, um eine Ausscheidung herbeizuführen, bekam ich keine größere Menge löslichen Stickstoffes. Nur in noch größerer Menge dürfte die Essigsäure auflösend wirken. Die von den amerikanischen Forschern gewählte Essigsäuremethode scheint mir daher zuverlässige Resultate zu geben; jedenfalls ist sie für quantitative Untersuchungen geeigneter als das Chamberland'sche Filter, da bei Anwendung des letzteren die Kerzen neu oder frisch ausgeglüht sein müssen, wie Orla Jensen und ich in der erwähnten Arbeit gezeigt haben, da sonst die Resultate starke Schwankungen aufweisen.

Versuch 1. Magermilch mit 20 Proz. Aether. Bruttemperatur, 3 Monate alt, giebt 0,173 löslichen N.

Versuch 2. Magermilch mit 10 und 20 Proz. Aether. Bruttemperatur. Die Kontrollmilch giebt 0,057 Proz. löslichen N und 0,027 Amid-N.

Nach 2 Monaten die gewohnte Veränderung.

Milch mit 10 Proz. Aether: 0,322 löslichen N.

„ „ 20 „ „ 0,324 „ und 0,048 Amid-N.

Nach weiteren $1\frac{1}{2}$ Monaten giebt ein dritter Kolben mit 20 Proz. Aether 0,055 Amid-N

Versuch 3. Um festzustellen, ob die Auflösung des Caseïns etwa dem Aether zuzuschreiben sei, wurde sterilisierte Magermilch, in welcher die Enzyme durch die Einwirkung der Wärme abgetötet sind, mit Aether behandelt und bei 37° aufbewahrt. Nach ca. 2 Wochen findet man 0,078 löslichen N und 0,028 Amid-N. Die Kontrollmilch hatte fast die gleichen Zahlen gegeben. An der Auflösung des Caseïns nimmt also der Aether jedenfalls keinen Anteil. Dagegen war ein gelatinöses Aufquellen des Caseïns bemerkbar.

Versuch 4. Magermilch mit $12\frac{1}{2}$ Proz. Aether. Zimmertemperatur.

1) Daß in diesen Versuchen die Auflösung des Caseïns nicht auf die Milchsäure zurückzuführen ist, ergiebt sich aus meinen früheren Versuchen (Landw. Jahrbuch der Schweiz. Bd. XI. p. 95 am Ende), welche gezeigt haben, daß sterilisierte Milch selbst mit 0,5—2 Proz. Milchsäure versetzt und nach längerer Zeit durch eine Chamberland'sche Kerze filtriert, keine Zunahme des löslichen Stickstoffes in Filtrate erfährt.

Nach 8 Monaten 0,338 Proz. löslichen N, 0,055 Amid-N. Bei niedriger Temperatur erreicht man also mit der Zeit ein gleiches Resultat wie bei höherer Temperatur.

Nach Angabe von Babcock und Russell kann man andere Antiseptika als Aether und Chloroform nicht brauchen, so z. B. Formalin, weil dadurch die Wirksamkeit der Milchenzyme bedeutend geschwächt werde. Dies habe ich bestätigt gefunden, wie aus folgendem Versuch sich ergiebt:

Versuch 5. Magermilch mit $1\,{}^0/_{00}$ Formalin. Nach 6 Wochen bei Bruttemperatur steril, gar keine makroskopische Veränderung, nur 0,101 Proz. löslichen N. Eine andere Portion der gleichen Milch gleichzeitig mit 20 Proz. Aether und $1\,{}^0/_{00}$ Formalin behandelt, gab 0,08 Proz. löslichen N; dagegen war wie gewohnt das gelatinöse Aufquellen des Caseïns eingetreten. Dieses zeigt, daß letztere Erscheinung der Einwirkung des Aethers zuzuschreiben ist, wie auch aus einem früheren Versuche hervorgeht, daß sie bei Zusatz von 20 Proz. Aether schneller eintritt als bei Zusatz von bloß 10 Proz. Die Auflösung des Caseïns dagegen kann man sich nicht anders erklären, als durch die Einwirkung des Milchenzyms.

Diesen Versuchen kann ich noch folgende von meinem Assistenten, Herrn Orla Jensen, ausgeführte Experimente anreihen (Vers. 6—11).

Versuch 6. Dieser Versuch sollte dazu dienen, festzustellen, ob das Enzym auch in verdünnter Milch in gleicher Weise wirkt.

Magermilch mit 10-proz. Aether. Nach 18 Tagen Bruttemperatur	0,265 Proz. löslichen N und 0,034 Proz. Amid-N.
Gleiche Milch, mit der zweifachen Menge Wasser verdünnt. 10-proz. Aether. Nach 18 Tagen Bruttemperatur	0,273 Proz. löslichen N und 0,034 Proz. Amid-N.
Gleiche Milch, mit $1\,{}^0/_{00}$ Formalin. Nach 18 Tagen Bruttemperatur	0,101 Proz. löslichen N und 0,031 Proz. Amid-N.
Gleiche Milch, verdünnt mit der zweifachen Menge Wasser. $1\,{}^0/_{00}$ Formalin. Nach 18 Tagen Bruttemperatur	0,101 Proz. löslichen N und 0,019 Proz. Amid-N.

Man sieht, daß die Verdünnung die Wirkung des Milchenzyms nicht abschwächt. Formalin dagegen zeigt seine ungünstige Wirkung.

Versuch 7. Magermilch mit $1\,{}^0/_{00}$ Formalin. Bruttemperatur. Nach 6 Wochen 0,120 Proz. löslichen N und 0,031 Proz. Amid-N. Die Kontrollmilch hatte 0,059 Proz. löslichen N und 0,022 Amid-N gegeben.

Versuch 8. Magermilch mit $1\,{}^0/_{00}$ Formalin, 6 Tage bei Bruttemperatur, giebt 0,101 Proz. löslichen N und 0,030 Proz. Amid-N. Die Kontrollmilch hatte 0,074 Proz. löslichen N und 0,029 Proz. Amid-N gegeben.

Versuch 9. Vollmilch mit $1\,{}^0/_{00}$ Formalin, welches gleich nach dem Melken zugesetzt worden war. Nach 9 Tagen bei Bruttemperatur 0,116 Proz. löslichen N mit 0,028 Proz. Amid-N. Die Kontrollmilch hatte 0,053 Proz. löslichen N und 0,626 Proz. Amid-N gegeben.

Veruch 10. In diesem Versuche wurde der Einfluß der Temperatur auf das Enzym bestimmt.

Kontrollmilch giebt	0,063 Proz. löslichen N und 0,031 Proz. Amid-N.
Gleiche Magermilch, momentan auf 85 ° erwärmt, giebt mit 1 $^0/_{00}$ Formalin bei 35 ° nach 6 Tagen	0,062 Proz. löslichen N und 0,031 Proz. Amid-N.
Gleiche Milch eine Stunde auf 60 ° erwärmt, giebt mit Formalin ebenfalls nach 6 Tagen bei 35 °	0,070 Proz. löslichen N und 0,033 Proz. Amid-N.
Gleiche Milch mit Formalin, aber nicht erwärmt, nach 6 Tagen bei 35 °	0,083 Proz. löslichen N und 0,031 Proz. Amid-N.

Die Differenzen sind hier sehr gering, einesteils, weil Formalin gebraucht wurde, welches an sich schon das Enzym abschwächt, anderenteils, weil die Untersuchung nach sehr kurzer Zeit stattfand. Der Versuch wurde daher mit Aether wiederholt und die Untersuchung erst nach 4 Wochen vorgenommen. Immerhin scheint eine momentane Erwärmung auf 85 ° das Enzym abzutöten.

Versuch 11.

Kontrollmagermilch:	0,062 Proz. löslichen N und 0,021 Proz. Amid-N.
Gleiche Milch, $^1/_2$ Stunde auf 75 ° bis 80 ° erwärmt, mit 15-proz. Aether behandelt und nach 4 Wochen untersucht.	0,077 Proz. löslichen N und 0,022 Proz. Amid-N.
Gleiche Milch, $^1/_2$ Stunde auf 60 ° erwärmt, mit 15-proz. Aether behandelt und nach 4 Wochen untersucht	0,288 Proz. löslichen N und 0,027 Proz. Amid-N.
Gleiche Milch, nicht erwärmt, mit 15-proz. Aether behandelt und nach 4 Wochen untersucht	0,300 Proz. löslichen N und 0,030 Proz. Amid-N.

Die Einwirkung der Temperatur macht sich hier sehr deutlich bemerkbar. Bereits bei 75 ° ist eine Abschwächung zu konstatieren. Bei 60° dagegen ist nach $^1/_2$ Stunde das Enzym kaum schwächer geworden. Sollte dieses Enzym bei der Käsereifung eine Rolle spielen, so ergäbe sich aus dem Vorhergehenden, daß die bei dem Nachwärmen der Emmenthalerkäse angewandte Temperatur seiner Einwirkung nicht hinderlich ist.

Die abschwächende Wirkung des Formalins auf dieses Enzym veranlaßte mich, auch mit anderen Enzymen ähnliche Versuche zu machen. Ich wählte zu diesem Zwecke Pepsin und Pankreatin. In dieser Versuchsreihe wurde die Milch durch Chamberland'sche Filter filtriert.

Veruch 1. Kontrollmilch (Magermilch, sterilisiert),	0,022	Proz.	löslichen N.
Gleiche Milch, 24 Stunden lang mit Pepsin (1 g für $^1/_2$ Liter, nebst 5 ccm Salzsäure, verdaut bei 35°)	0,308	„	„
Gleiche Milch, in gleicher Weise behandelt, aber mit Zusatz von 1 $^0/_{00}$ Formalin	0,200	„	„
Mit Zusatz von 1 $^0/_{00}$ Formaldehyd (= 2,5 $^0/_{00}$ Formalin)	0,261	„	„
Mit Zusatz von 5 $^0/_{00}$ Formaldehyd (= 12,5 $^0/_{00}$ Formalin)	0,108	„	„

Versuch 2. Gleiche Milch wie im vorigen Versuche, also: 0,022 Proz. löslicher N.

Gleiche Milch ($^1/_2$ Liter) mtt 1 g Pankreatin bei 35 ° verdaut:	0,256 Proz. löslichen N.
Gleiche Behandlung, aber mit Zusatz von 1 $^0/_{00}$ Formalin	0,185 Proz. löslichen N.
Gleiche Behandlung, aber mit Zusatz von 1 $^0/_{00}$ Formaldehyd (= 2,5 $^0/_{00}$ Formalin	0,140 Proz. löslichen N.
Gleiche Behandlung aber mit Zusatz von 5 $^0/_{00}$ Formaldehyd (= 12,5 $^0/_{00}$ Formalin)	0,055 Proz. löslichen N.

Die Differenz zwischen letzterer und der Kontrollmilch entspricht ganz dem Stickstoffgehalt des zugesetzten Pankreatins (0,3 Proz.)

Eine abschwächende Wirkung des Formalins macht sich also auch hier geltend, jedoch in weit geringerem Maße als gegenüber der Galaktase.

In ihren Versuchen legen Babcock und Russell ein besonderes Gewicht darauf, sehr reinlich gemolkene Milch zu gebrauchen, um die Wirkung der von Bakterien etwa produzierten Enzyme auszuschließen, was ja leicht geschehen kann, falls zu lange Zeit zwischen dem Melken und dem Versuche verstreicht.

Der folgende Versuch zeigt, daß nicht bloß die von den Bakterien produzierten Enzyme mitwirken können, sondern daß sogar Bakterienleiber und Sporen solche lösende Enzyme enthalten können.

Eine Flasche Milch, bei 120° sterilisiert zur Abtötung der Milchenzyme, erhält 20° Proz. Aether und einige Tropfen einer Sporenemulsion von Tyrothrix tenuis und wird bei 35° gehalten. Eine andere Flasche wird in gleicher Weise behandelt, nur wird die Sporenemulsion vorher aufgekocht, um etwaige Enzyme in derselben zu vernichten. Nach 3 Monaten ist letztere noch unverändert; sie giebt 0,053 Proz. löslichen N. In der ersteren Flasche dagegen macht sich nach 4 Wochen eine beginnende Zersetzung bemerkbar, die nach weiteren 2 Monaten stark vorgeschritten ist. Man sieht am Boden eine 2—3 ccm hohe Schicht Caseïn und darüber eine hellgrünliche Flüssigkeit. An löslichem Stickstoff enthält diese Milch 0,098 Proz. In den Präparaten waren keine Bacillen sichtbar. Der Versuch wurde wiederholt und die gleiche makroskopische Veränderung der Milch trat ein.

Um zu sehen, ob das Milchenzym das Chamberland'sche Filter passiert, wurden zu 600 ccm sterilisierter Milch in einem ersten Versuche 60 ccm filtrierter Vollmilch hinzugefügt, und in einem zweiten Versuche 80 ccm. Beide Proben blieben unverändert, die erstere gab nach 5 Wochen bei Bruttemperatur 0,05 Proz., die zweite nach 6 Monaten 0,033 Proz. löslichen N. Das Enzym scheint also von der Chamberland'schen Kerze zurückgehalten zu werden.

Diese Versuche scheinen mir die Resultate von Babcock und Russell vollständig zu bestätigen. Inwieweit kann man nun dieses Enzym als einen bei der Käsereifung wirksamen Faktor ansehen? In ihrer ersten Veröffentlichung scheinen Babcock und Russell demselben eine Hauptrolle zuteilen zu wollen. Demgegenüber ist jedoch zu bemerken, daß, wie meine Versuche zeigen, dieses Enzym zwar eine stark lösende Wirkung auf das Caseïn ausübt, daß ihm aber die Fähigkeit nur in geringem Maße innewohnt, dasselbe weiter zu zersetzen, denn die Zunahme des Amidstickstoffes war stets unbedeutend. Da nun, bei Emmenthalerkäse wenigstens, die Bildung von Zersetzungsprodukten nach den Untersuchungen von Bondzynski gerade das Charakteristische der Reifung ist, so ist nicht anzunehmen, daß dieses Enzym die Hauptrolle spielt. Dagegen wäre es wohl möglich, daß es durch Auflösung des Caseïns das Werk der die eigentliche Reifung und Geschmacksbildung verursachenden Bakterien vorbereiten und erleichtern könnte.

Bern, im Januar 1900.

Referate.

Meyer, Arthur, Ueber Geißeln, Reservestoffe, Kerne und Sporenbildung der Bakterien. (Flora. Bd. LXXXVI. 1899. p. 428—468. Mit 1 Taf.)

1) Die Geißeln von Bacillus asterosporus. A. Meyer erkennt die von Migula nachgewiesene peritriche Begeißelung seiner „Astasia asterospora" und damit die Notwendigkeit der Namensänderung an und zieht seine früheren Angaben über ein seitliches Geißelbüschel zurück. Er bestätigt die Angaben A. Fischer's über die Entstehung der Geißeln nach der Keimung auf Grund von Beobachtungen an Bacillus asterosporus. Die Geißeln sind zunächst kurz und zart und werden in älteren Kulturen länger und dicker. Die Angabe Migula's, daß die Geißeln vielfach aus der Kapsel (Gallerthülle) entspringen, führt Meyer auf irrige Auslegung von Objekten zurück, bei denen die basalen Teile der Geißeln verquollen und verschmolzen waren. Bei Bacillus tumescens wurden auch sporenführende Schwärmer beobachtet.

2) Das als Reservestoff auftretende Fett der Bakterien, besonders das von Bacillus tumescens. Wo zahlreiche Körner im Bakterienplasma auftreten, handelt es sich in den meisten Fällen um Fetttröpfchen. Zum mikrochemischen Nachweise derselben fixiert Verf. die Zellen mit Formalin und färbt dann. Methylenblau färbt nur das Plasma, läßt dagegen die Fetttropfen ungefärbt. Andere Farbstoffe dagegen, unter denen das Dimethylamidoazobenzol (gelb) und Sudan III (Grübler & Co., Leipzig; rot) besonders empfohlen werden, färben die Fetttropfen. Bei Vereinigung dieser Farbstoffe mit Methylenblau erhält Meyer sehr charakteristische Doppelfärbungen, in denen die Fetttropfen deutlichst hervortreten. Auch ihre anderen mikrochemischen Reaktionen, soweit sie anwendbar sind, stimmen mit der Auffassung der Körnchen von Bacillus tumescens als Fett überein. Auch makrochemisch ließ sich aus Kulturen mit Aether ein Fett gewinnen, das verseift werden konnte. Der Glycerinnachweis gelang allerdings nicht. Daß das Fett die Rolle eines Reservestoffes spielt, ist an sich wahrscheinlich. Sein Verhalten bei der Sporenbildung, wo es abnimmt bis zum Verschwinden, während es vorher allmählich gespeichert wurde, deutet ebenfalls darauf hin. Die Sporen des Bacillus tumescens selbst enthalten kein Fett. Er bildet solches aber auch in kohlehydratfreiem Nährboden (Asparaginlösung) in geringer Menge, während er auf armem Nährboden (reines Agar) fettärmer wird. Es wird weiter hingewiesen auf Ruppel's Nachweis von Fett in Tuberkelbacillen (1898). Diesem Forscher gelang neuerdings auch der auf Meyer's Veranlassung unternommene Nachweis des Glycerins in den Verseifungsprodukten.

In anderen Bakterien ist das Fett durch komplexe Kohlehydrate ersetzt.

3) Die mit Jod färbbaren Polysaccharide, welche als Reservestoffe

in den Bakterienzellen auftreten, färben sich mit Jod teils blau (Amylobacter), teils gelb bis braun und werden in letzterem Falle als Glykogen gedeutet. An einem nach Beijerinck's Vorschrift von Gerste gezüchteten Granulobacter wird der so wünschenswerte Nachweis geliefert, daß es sich bei dem mit Jod sich bläuenden Bestandteile des Bakteriums in der That um ein stärkeähnliches Kohlehydrat handelt: Dasselbe wird durch Malzdiastase und Speichel glatt gelöst. Mit viel Jod färbt sich die Amylobacter-Granulose übrigens braun. Im Bacillus subtilis fand Verf. einen Stoff, der sich mit Jod überhaupt braun färbt und ebenfalls von Speichel sowie durch Kochen mit verdünnter Schwefelsäure gelöst wird. Sowohl die Granulobacter-Formen wie B. subtilis bilden diastatische Enzyme, so daß an ihrem Vermögen, die von ihnen gespeicherten Kohlehydrate wieder zu lösen, nicht zu zweifeln ist. Ob es sich bei dem Kohlehydrat des Heubacillus um Amylodextrin oder Glykogen handelt, ist mikrochemisch um so weniger zu entscheiden, als nach den Ausführungen des Verf.'s selbst auf makrochemischem Wege die Identität von dem sich rot färbenden Kohlehydrate der höheren Pilze, der Hefe und der Bakterien und dem Glykogen der Tiere noch nicht sicher erwiesen ist. Jedenfalls steht es aber samt dem sogenannten Glykogen der Pilze dem Glykogen und dem Amylodextrin sehr nahe.

4) Ueber die Kerne der Bakterien. Meyer wirft Migula vor, Kerne und Fetttröpfchen nicht auseinandergehalten zu haben. Dieselben unterscheiden sich in ihrem Färbungsvermögen wesentlich. Seine Ansicht über die von ihm als Kerne gedeuteten, konstant in Mehrzahl in den Bakterienzellen vorkommenden Gebilde präcisiert Meyer jetzt dahin, daß sie unbedingt keine ergastischen Gebilde, sondern Organe des Protoplasten sein müssen. „Wenn dieses feststeht, so ist das Naheliegendste, daß wir sie als Zellkerne betrachten." Dafür sprechen ihr Verhalten bei der Bildung der Spore, in die je ein Kern eintritt, ferner die Zunahme ihrer Zahl bei der Vergrößerung der Zelle, ihre Gestalt, auch die der anscheinenden Teilungsstadien, ihr Größenverhältnis und endlich die etwas variable Färbbarkeit in den verschiedenen Entwickelungsstadien der Species. Ihr Verhalten zu den Farbstoffen spricht nicht dagegen. Leider hat A. Meyer aber die Teilung nicht direkt beobachtet, so daß er selbst seine Beweise nicht als absolut ansieht.

Für Bacillus subtilis führt Verf. jetzt den Nachweis, daß bei ihm die Sporenbildung ganz dem Modus von B. asterosporus und tumescens gleicht und damit sich dem Typus der Askosporenbildung anschließt.

5) Die Stellung der Spaltpilze im System der Organismen und der morphologische Wert der Morphoden der Spaltpilze. A. Meyer reiht die Bakterien bei den Eumyceten, Klasse der Askomyceten, ein. Sie stehen zwischen Hemi- und Euasci und unterscheiden sich von diesen durch die normale Einzahl der Sporem im Sporangium sowie das häufige Vorkommen von Schwärmoidien. Ref. ist nicht klar, wo dann bei dieser rein auf die Stäbchenbakterien zugeschnittenen Charakteristik die Coccaceen ihren Platz finden sollen.

Bezüglich der Einzelheiten in der, wie aus dem Vorhergehenden hervorgeht, inhaltreichen und anregenden Arbeit muß auf das Original als unentbehrlich verwiesen werden. Behrens (Karlsruhe).

Beijerinck, M. W., Les organismes anaérobies obligatoires ont-ils besoin d'oxygène libre? (Archives Néerlandaises. T. II. Sér. 2. 1899. p. 397.)

In einer früheren Arbeit[1]) hat Beijerinck dreierlei Typen von „Atmungsfiguren" beweglicher Bakterien beschrieben, welche er als Aëroben-, Spirillen- und Anaërobentypus bezeichnet hat. Ausgedehntere Untersuchungen haben ihm aber gezeigt, daß der Anaërobentypus (centrale Ansammlung der Bakterien) nur als ein spezieller Fall des Spirillentypus betrachtet werden muß, denn auch die obligat Anaëroben bilden, wenn sie in genügender Quantität zugegen sind, eine Figur nach dem Spirillentypus, d. h. sammeln sich in einer gewissen Entfernung vom freien Rande des Flüssigkeitstropfens an, wo eine sehr geringe ihnen zusagende Sauerstoffspannung herrscht. Bei geringer Anzahl und reichem Sauerstoffzufluß fliehen andererseits die Spirillen bis ins Centrum des Tropfens und realisieren eine Figur des Anaërobentypus.

Diese Thatsachen veranlassen Beijerinck, die frühere Bezeichnung „Anaërobentypus" fallen zu lassen. Es genügt, die Bakterien nach ihrem Sauerstoffbedürfnis in zwei Gruppen einzuteilen: in aërophile, welche eine höhere Sauerstoffpressung vorziehen, und mikroaërophile, welche eine mehr oder weniger niedrige Tension dieses Gases beanspruchen. Als Versuchsmaterial benutzte Beijerinck Granulobacter saccharobutyricum, Granulobacter butylicum und einige anaërobe Fäulnisbakterien. Die Atmungsfiguren konnten natürlich nur bei den beweglichen Arten untersucht werden. Für die unbeweglichen war es aber möglich, festzustellen, daß ihr Wachstum nicht bei vollkommener Abwesenheit des Sauerstoffes, sondern in Gegenwart minimaler Spuren dieses Gases am intensivsten ist. Die hierbei benutzte Methode bestand darin, daß Kulturen in hoher Gelatine- (oder Agar-)Schicht angelegt wurden, und zwar Schüttelkulturen des anaëroben Pilzes mit Zusatz einer geeigneten aëroben Art (rosa Hefe, B. fluorescens non liquefaciens). Das intensivste Wachstum der Anaëroben fand nicht in der Tiefe, sondern in einer gewissen Entfernung von der Oberfläche statt. Die obligat Anaëroben sind also sowohl in ihrer Bewegungsfunktion, als auch in ihrem Wachstum nicht aërophob, sondern mikroaërophil. Dennoch haben sie die Fähigkeit, auch ohne die geringsten Spuren des freien Sauerstoffes zu leben und sich zu vermehren. Ob aber dieser Zustand unbegrenzt lange dauern kann, darüber fehlt es noch an Erfahrungen. In seinen Schlußbemerkungen äußert Beijerinck die Ansicht, daß die obligat Anaëroben (ebenso wie die fakultativ anaëroben) zu ihrem Lebensunterhalte einer wenn auch minimalen Menge von freiem Sauerstoff bedürfen, den sie vielleicht als Reserve in den Zellen speichern. Uebrigens betrachtet er selbst diese Ansicht noch nicht für streng bewiesen. G. Ritter (Moskau).

1) Centralbl. f. Bakteriologie etc. Bd. XIV. 1893. p. 837.

Klett, Ad., Zur Kenntnis der reduzierenden Eigenschaften der Bakterien. (Ztschr. f. Hygiene. Bd. XXXIII. 1900. p. 137.)

Zum Studium der reduzierenden Eigenschaften der Bakterien verwendet Verf. auf den Vorschlag von Scheurlen Natrium selenosum und tellurosum, welche bei der Reduktion rotes Selen und schwarzes Tellur liefern. Von einer 2-proz. Lösung des Reagens werden 2—10 Tropfen zu 10—12 ccm des Nährbodens zugesetzt.

27 Bakterienarten werden mit durchweg positivem Resultat auf ihre Reduktionsfähigkeit geprüft. Die meisten Arten (Milchsäurebakterien, Typhus, Bacterium coli, Prodigiosus, megatherium, Staphylococcus pyogenes albus, Hühnercholera, Bacillus ramosus, fluorescens non liquefaciens u. a.) werden durch Natrium selenosum in ihrer Entwickelung fast gar nicht, andere (z. B. Milzbrand, Tuberkulose) mäßig und einige, wie Diphtheriebakterien, Rauschbrand und malignes Oedem, sehr stark gehemmt. Die Reduktionsthätigkeit erwies sich der Wachstumsintensität proportional.

Obgleich die aëroben Bakterien den Sauerstoff der selenigen Säure energisch absorbieren, können sie dennoch bei Luftabschluß ihren Sauerstoffbedarf nicht aus dieser Quelle schöpfen.

Was die obligat Anaëroben anbetrifft, so wirkt in diesem Falle der Zusatz einer reduzierbaren Substanz (im Gegensatz zu älteren Erfahrungen von Behring, Kitasato und Weyl entschieden entwickelungshemmend. Natrium selenosum wird von Anaëroben überhaupt nicht reduziert, Natrium tellurosum wohl, aber schwächer als von einigen Aëroben.

Die Frage, ob die Reduktion in den Bakterienzellen selbst oder außerhalb derselben durch diffundierende Stoffwechselprodukte bewirkt wird, entscheidet der Verf. zu Gunsten der ersten Annahme. In Platten-, Stich- und Strichkulturen breitet sich die durch Rotfärbung kenntliche Reduktion des Selens niemals über die Grenzen der eigentlichen Bakterienvegetation aus, und auch die mikroskopische Untersuchung der Bakterien beweist, daß das reduzierte Selen in feinsten Körnchen teilweise den Bakterienzellen dicht angelagert, teilweise im Innern der Zellen ausgeschieden wird. G. Ritter (Moskau).

Rogóyski, Kazimierz, O denitrifikacyi i o rozklodzie odchodew zwierzecych w ziemi. [Zur Kenntnis der Denitrifikation und der Zersetzungserscheinungen der tierischen Exkremente in der Ackererde.] (Anzeiger der Akad. d. Wissensch. in Krakau. 1899. Juli.)

Obgleich die wichtige Frage in dieser Arbeit eine rein chemische und keine bakteriologische Behandlung erfahren hat, dürften die Resultate derselben zweifellos auch für Bakteriologen von großem Interesse sein. Ohne auf die Einzelheiten der (übrigens ziemlich einfachen) Versuchsanstellung näher einzugehen, mögen hier nur die Schlußfolgerungen des Verf.'s wiedergegeben werden:

1) Bei der Denitrifikation des Salpeters in der Ackererde unter dem Einflusse einer Beimengung von großen Mengen des tierischen

Kotes kann der Stickstoff des sich zersetzenden Salpeters je nach den Umständen entweder frei aus der Erde entweichen oder aber zum größten Teil oder auch gänzlich in unlösliche Verbindungen verwandelt, in derselben verbleiben.

2) Düngt man den Boden mit dem tierischen Harn (oder Ammoniaksalzen) unter Beidüngung von sehr großen Mengen des tierischen Kotes oder Stroh, so kann der Harnstickstoff je nach den Umständen entweder zum freien Stickgas verbrannt oder in unlösliche Verbindungen übergeführt werden. Diese aus Harnstickstoff sich bildenden unlöslichen Verbindungen scheinen leicht nitrifizierbar zu sein.

3) Die unter 1 und 2 angegebenen Erscheinungen können nur dann zustande kommen, wenn der Erde ganz außerordentlich große, nie in der Praxis übliche Mengen des tierischen Kotes beigemengt werden. Bei Anwendung von mäßigeren, obwohl im Verhältnis zu den in der Praxis üblichen noch sehr großen Kotmengen treten diese Erscheinungen nicht ein, sondern der Salpeter verbleibt unverändert im Boden und der Harnstickstoff wird in seiner Nitrifikation nicht gehindert.

4) Die weitläufigen Folgerungen, welche die deutschen Agrikulturchemiker aus ihren Untersuchungen über die Denitrifikation für die Praxis gezogen haben, sind unbegründet und belanglos.

G. Ritter (Moskau).

Adametz, L., Reift der Hartkäse gleichmäßig durch die ganze Masse oder von außen nach innen? (Sep. aus „Oesterreich. Molkereizeitung". 1899.)

Während bei Weichkäse sich leicht durch den Augenschein erkennen läßt, daß die Reifung von außen nach innen fortschreitet, ist diese Frage für Hartkäse, insbesondere für den Typus desselben, den Emmenthalerkäse, noch unentschieden, wie Adametz an der Hand der Litteratur ausführt. Den Reifungsgrad beurteilt Verf. im Gegensatz zu Freudenreich nicht nach dem Verhältnis von unlöslichem (Caseïn-)Stickstoff zu löslichem, sondern rein empirisch nach Geruch und Geschmack. Er findet auf Grund seiner Beobachtungen und bei kritischer Durchmusterung der vorliegenden chemischen und bakteriologischen Litteratur, daß von den 3 möglichen Reifungsarten, Reifung von außen nach innen, von innen nach außen und gleichmäßig durch den ganzen Käse hindurch, wie bei den Weichkäsen, so auch bei den Hartkäsen die erste verwirklicht ist. Dieser Ansicht sind auch die Praktiker.

Ref., der der Frage allerdings fern steht, fällt es auf, daß Adametz der chemischen Untersuchung jeden Wert für die Beurteilung des Reifungsgrades von Käse abspricht. Er sieht die Reifung praktisch nur in den chemisch unfaßbaren Geschmacks- und Geruchsänderungen der Käsemasse. Aber neben diesen gehen doch mit der Reifung auch chemische Veränderungen des Caseïns Hand in Hand, folglich müssen auch die letzteren ein Bild der Reifung geben können, und dieses Bild würde den Vorzug haben, ein objektives, nicht auf subjektiven Schätzungen des Geschmackes und Geruches beruhendes zu sein. Wesentlich ist der Arbeit die Polemik

gegen den „Juristen und Bakteriologen" E. v. Freudenreich, die keineswegs nach dem Geschmack des Ref. und durch den Ton von Freudenreich's kurzer Bemerkung (dies. Centralbl. Bd. V. 1899. p. 244) durchaus nicht begründet ist.

Adametz verspricht, bei späteren Aufsätzen den Beweis zu führen, daß Freudenreich's Ansicht von der Reifung der Käse durch gewisse Milchsäurebakterien eine Irrlehre sei und auf Autosuggestion beruhe. Nach Ansicht des Ref. hat Freudenreich indes den Beweis, daß gewisse Milchsäurebakterien Caseïn zu lösen vermögen, einwurfsfrei erbracht, daß diese Milchsäurebakterien auch das Aroma erzeugten, aber nicht behauptet. Die beiden Seiten des Reifungsvorganges könnten aber auch von verschiedenen Organismen herrühren. Behrens (Karlsruhe).

Meissner, R., Neuere Untersuchungen über das Zähwerden der Weine. (Bericht über die Verhandlungen des XVII. deutschen Weinbau-Kongresses in Trier im September 1898. Ausgegeben 1899. p. 104—113.)

Die vorliegende Arbeit ist ein Abdruck eines Vortrages, den M. bereits im September 1898 in Trier hielt. Hervorzuheben aus demselben ist, daß auch weitere Arbeiten die von Wortmann gefundene Thatsache bestätigt haben, nämlich daß nicht nur Bakterien, sondern auch echte Sproßpilze — Schleimhefen — Most und auch Wein zähe machen können. Diese Schleimhefen haben ein ausgesprochenes Sauerstoffbedürfnis, ihre Widerstandsfähigkeit gegen Alkohol ist derartig, daß sie noch bei 5 Proz. Alkoholgehalt im Moste sich vermehren und erst bei 6 Proz. die Vermehrung einstellen. Besonders interessant ist weiter der experimentelle Nachweis, daß Gerbsäure die Wachstums- und Vermehrungsthätigkeit der Schleimhefen hemmt.

Die weiteren Ausführungen beschäftigen sich mit den Umständen, unter denen es gelingt experimentell Most und Wein zähe zu machen. Daß dies noch nicht immer ohne weiteres gelingt, schiebt Verf. darauf, daß eine ganze Reihe derjenigen Eigenschaften des Weines, die eine Entwickelung der Pilze zulassen, noch nicht bekannt sind.

Appel (Charlottenburg).

Koning, C. J., Hollandsche Tabak. Morphologie en Biologie der Tabaksbacterien. (De indische Mercuur van 8. Juli 1899.)

Bei der Fermentation des holländischen Tabaks spielen ein Diplococcus tabaci und ein Bacillus tabaci I die Hauptrolle, die in dem vorliegenden Aufsatze näher beschrieben werden.

Zur Untersuchung der Flora fermentierenden Tabaks empfiehlt der Verf., sich der Oberflächenkulturen zu bedienen. Er bringt kleine Blattstückchen in physiologische Kochsalzlösung, schüttelt um und verdünnt in andere Gläschen, deren Inhalt über Gelatineplatten ausgegossen wird. Die überschüssige Flüssigkeit läßt man ablaufen. Man kann auch mit sterilem Pinsel die Blattstückchen von anhaftenden Bakterien befreien und auch so diese in der Flüssigkeit verteilen. Auf diese Weise läßt sich zeigen, daß während der ganzen Fermen-

tation Tausende von Mikroorganismen auf jedem kleinen Blattstück vorhanden sind.

Der Bacillus tabaci I ist unbeweglich, aërob und wechselt auf verschiedenen Nährböden kultiviert sehr in der Größe. Nach Gram ist er nicht färbbar. Sporen werden nicht gebildet. Bei 60° stirbt er nach 20 Minuten, bei 50° nach 6 Stunden. Sonderbarerweise stellt Verf. dieses Bakterium in die Proteus-Gruppe, deren typische, von Hauser beschriebene Vertreter lebhaft beweglich und peritrich sind. Auf Agar, dem Tabakssaft zugesetzt war, beobachtete Verf. nach einigen Wochen eigenartige Inokulationsformen, die manchmal hefezellenartig aussehen. Auf frischen Nährboden übertragen, stellt sich normales Wachstum wieder ein. Asparagin wird unter Ammoniakbildung zerlegt, Nitrat zu Nitrit reduziert, Glukose verbraucht, Gelatine wird energisch verflüssigt. Auf natürlich saurem Tabaksextrakt wächst das Bakterium nicht gut, besser, wenn der Säuregehalt vermindert ist.

Der Diplococcus tabaci bildet auf der Gelatineplatte kleine, scharf begrenzte, runde, citronengelbe Kolonieen. Bei Zimmertemperatur wächst er am besten und bildet, wie der Bacillus tabaci I, Ammoniak. Gelatine wird nur sehr schwach und spät verflüssigt. Er gedeiht auch in sauren Nährmedien und ist, wie der B. tabaci I, obligat aërob.

Außer diesen beiden Arten fand Verf. während der Fermentation mehr oder weniger „Proteus“-artige Bakterien. Auch diese sowie der fakultativ anaërobe Bacillus tabaci III, der wahrscheinlich an der Temperatursteigerung des fermentierenden Tabaks einen nicht geringen Anteil hat, spielen bei der Fermentation eine Rolle.

Behrens (Karlsruhe).

Koning, C. J., Woods' destruction of chlorophyll by oxidizing enzymes. (De indische Mercuur van 16. December 1899.)

Koning wendet sich gegen Woods, der (dies. Centralbl. Bd. V. 1899. p. 750 ff.) die Mosaikkrankheit des Tabaks zurückgeführt hatte auf eine Ueberproduktion von oxydierenden Enzymen, welche stellenweise das Chlorophyll der Blätter zum Teil zerstören. Während man bisher bei der Mosaikkrankheit die dunkelgrünen Partieen des Blattes als erkrankt, die hellgrünen als gesund betrachtet hatte, stellt sich Woods auf den umgekehrten Standpunkt.

Nach Koning ist Woods unzweifelhaft von Loew (vgl. dieses Centralbl. Bd. V. 1899. p. 730) beeinflußt. Seine Annahme erklärt viele Thatsachen nicht, so nicht die Thatsache, daß bei successiver Uebertragung der Krankheit von einer Pflanze auf die andere noch die 5. Infektion glückte, während dann doch die Oxydase, wenn sie die Ursache wäre, noch in außerordentlicher Verdünnung wirksam sein müßte. Die Theorie erklärt ferner nicht, woher denn diese außerordentliche Oxydaseproduktion in bestimmten Blattpartieen kommt. Die Mosaikkrankheit ließ sich auch nach Versuchen des Verf.'s vom Tabak nicht auf andere Solaneen übertragen. Bei niederer Temperatur verschwindet die Mosaikkrankheit, was auf eine für Oxydasen

wenig wahrscheinliche Empfindlichkeit des Virus gegen Kälte hinweist, u. s. w. Verf. hält an seiner Ansicht fest, daß die Mosaikkrankheit von unbekannten Organismen, wahrscheinlich Bakterien, herrührt, die allerdings ein schädlich wirkendes Stoffwechselprodukt erzeugen müssen. Behrens (Karlsruhe).

Nawaschin, S., Beobachtungen über den feineren Bau und Umwandlungen von Plasmodiophora brassicae Woron. im Laufe ihres intracellularen Lebens. (Flora. Bd. LXXXVI. 1899. p. 404—427. Mit 1 Taf.)

Nawaschin hat sich die Aufgabe gesetzt, in Ergänzung der klassischen Untersuchungen Woronin's über die Plasmodiophora brassicae die Organisation dieses eigenartigen intracellularen Parasiten genauer zu untersuchen. Die Resultate dieser mit Hilfe der modernen Tinktionsmethoden ausgeführten Untersuchungen sind aber nicht nur in dieser Beziehung, sondern auch in Rücksicht auf die allgemeine Pathologie äußerst wichtig und anregend.

Im ersten Teile beschäftigt sich der Verf. mit dem vegetativen Zustande des Parasiten, der nach Behandlung von Stückchen der kranken Wurzeln mit Flemming'scher Lösung durch seine schwarze Farbe von dem Protoplasten des Wirtes sich abhebt. In den jungen befallenen Zellen liegen die Amöben von Plasmodiophora, durch Wirtsplasma voneinander getrennt, in Mehrzahl um den Zellkern. Sie bestehen aus einem schaumigen Protoplasma, in dessen Waben Fetttröpfchen — daher die Schwarzfärbung mit Osmiumsäure — liegen, und das stets einige Kerne enthält, die in den Mikrotomschnitten zwischen den schwarzen Fetttröpfchen bei Saffraninfärbung als farblose Flecke mit einem centralen roten Punkte, dem Nucleolus, auffallen. Das Wirtsplasma, nie das des Parasiten, enthält mehr oder weniger zahlreiche Stärkekörner. Mit dem Alter der Infektion nimmt die Zahl der Amöben in der Zelle zu. Eine Verschmelzung oberoder unterhalb der Schnittfläche scheint indes nicht stattzufinden, was insbesondere daraus hervorgeht, daß immer nur in einzelnen Amöbendurchschnitten einer Zelle alle Kerne in Teilung sind, während Regel ist, daß die Kerne in einem Individuum sich stets simultan teilen. Die Vermehrung der Amöben wurde nicht beobachtet, geschieht aber wahrscheinlich durch Abschnüren von breiten Ausstülpungen. Das Plasma der Plasmodien zeigt keine Differenzierung in Ekto- und Endoplasma. Ihre Gestalt ist wechselnd und wird anscheinend durch ihre gegenseitigen Beziehungen und durch ihre Beziehungen zu Zellinhaltsbestandteilen des Wirtes bestimmt. Wo nicht andere Ursachen dem entgegenwirken, kommt es zur Abrundung. Bei jungen Amöben unterscheidet sich das Plasma nicht so scharf von dem des Wirtes, entsendet auch zahlreiche Fortsätze in das letztere. Amöben mit weniger als 4 Kernen sind selten, nie wurden solche mit weniger als 2 beobachtet. Die Form der Kerne ist eiförmig bis rundlich; sie bestehen aus einer Kernmembran, einem sich stark färbenden Nucleolus und, in der Kernhöhle liegend, einem außerordentlich zarten Chromatinnetze.

Mit der hypertrophischen Vergrößerung der Wirtszelle nimmt

die Zahl der Plasmodien außerordentlich zu. Die Art ihrer Vermehrung aber wurde nicht beobachtet, zweifellos beruht sie auf Zweiteilung, der eine simultane Teilung der Kerne vorausgeht. Bei dieser, die im Anhange näher geschildert wird, spielt der Nucleolus eine große Rolle. Es kommt in der Spindel zur Bildung einer Chromatinplatte, die den etwas gestreckten Nucleolus auf der Oberflächenansicht halbiert. Der Nucleolus teilt sich durch Einschnürung. Die Aequatorialplatte trägt peripherisch die Chromatinkörner. Die Spaltung der Aequatorialplatte war selten zu sehen. Die Tochterplatten rücken voneinander, und es kommt schließlich zur Konstituierung der Tochterkerne. Jedenfalls weicht der im Original ausführlicher geschilderte Modus der Kernteilung in den vegetativen Amöben von Plasmodiophora weit ab von der typischen Karyokinese, der dagegen die Teilung der Kerne zum Zwecke der Sporenbildung gleicht.

Die Amöben, welche sich zur Sporenbildung anschicken, runden sich zunächst ab. Das Wirtsplasma ist zu dieser Zeit auf ein Minimum geschwunden, Stärke allerdings meist noch vorhanden. Der Nucleolus der Parasiten ist auffallend verkleinert. Dann verschmelzen die Amöben der Zelle zu einem Plasmodium, in dessen Kernen Nukleolen überhaupt nicht mehr sichtbar sind, dagegen das Chromatinnetz gut hervortritt. Das Plasmodium vergrößert sich durch Vakuolenbildung, bis die ganze Zelle erfüllt ist. Vom Wirtsplasma ist nur noch eine sehr dünne, aber feste Hautschicht zu sehen. Die spärlichen Stärkekörner liegen jetzt im Parasitenkörper. Die Kerne verteilen sich gleichmäßig, und das Plasma wird immer körniger, endlich gleichmäßig fibrillär körnig, wobei die Kerne aufgelöst sind oder doch sich der Beobachtung entziehen. Später kommen sie gewöhnlich wieder zum Vorschein und teilen sich nach dem Schema der indirekten Kernteilung wiederholt simultan im ganzen Plasmodium. Endlich trennen sich die kernhaltigen Portionen des Plasmodiums als einkernige Amöben voneinander, runden sich ab und umgeben sich mit einer bald sich verdichtenden Membran. Eine Hüllmembran um die Sporenmasse wird nicht gebildet. Auch der Protoplasmaschlauch der Nährzelle schwindet bei der Sporenreifung.

Bezüglich der gegenseitigen Beziehungen zwischen dem Schmarotzer und den Geweben des Wirtes kommt Nawaschin zu folgenden von ihm selbst formulierten Ergänzungen der Angaben Woronin's:

„Die abgeschlossenen Gruppen der kranken Parenchymzellen, die Krankheitsherde der Wurzelanschwellung, entstehen durch wiederholte Teilung der primär infizierten Zellen.“

„Der Ernährungsmodus der Amöben scheint von dem bei den Schleimpilzen beobachteten verschieden zu sein.“ Sie nehmen nämlich augenscheinlich keine geformten Bestandteile auf, sondern ernähren sich osmotisch von gelösten Bestandteilen der Wirtszelle (Zellsaft).

„Die Bildung der Plasmodien erfolgt erst nach der vollständigen Erschöpfung der Nährzelle.“ Bis dahin bleiben die Amöben isoliert.

„Im Laufe der ersten Periode seiner Entwickelung (der vege-

tative Zustand) tötet der Schmarotzer die Nährzelle nicht, indem er nur die Hypertrophie derselben verursacht." Davon wird auch der später vergrößerte und abnorm gestaltete Zellkern betroffen.

Eine Menge von Fragen tauchen auf, die Nawaschin's schöne Untersuchungen nicht lösen konnten. Insbesondere ist die Frage nach der Wanderung der Amöben im Gewebe von Zelle zu Zelle (bei der Infektion) wohl eines genaueren Studiums wert, und Nawaschin hat gewiß nicht Unrecht, wenn er der Plasmodiophora brassicae eine große Bedeutung für den Ausbau der allgemeinen Pathologie zuschreibt und von ihrem künftigen Studium noch wertvolle Fingerzeige und Aufschlüsse erwartet. Behrens (Karlsruhe).

Untersuchungsmethoden, Instrumente etc.

Heidenreich, L., Einige Neuerungen in der bakteriologischen Technik. (Zeitschrift für wissenschaftliche Mikroskopie und für mikroskopische Technik. Bd. XVI. Heft 2. p. 145—179. Mit 24 Holzschnitten.)

1) Bürette mit selbstthätiger Nulleinstellung und Rückfluß des Restes der Titrierflüssigkeit in die Standflasche. Es ist dies eine gewöhnliche Bürette, welche nach unten verlängert ist und mit dieser Verlängerung durch die eine Oeffnung einer Wulff'schen in die in derselben befindliche Titrierflüssigkeit eintaucht. Abgeschlossen wird diese Bürette an der gewohnten Stelle mit einem Hahn. Ein zweiter seitlich angebrachter Hahn wird bei der Titration als Ausfluß benutzt. An den zweiten Hals der Wulff'schen Flasche ist ein mit einem Luftloche versehener Gummiballon angeschlossen. Durch Druck auf denselben kann man bei offenem Hahn die Titrierflüssigkeit zum Steigen bringen. Am O-Punkte befindet sich dann noch ein Ablaufrohr, das die überschüssige Flüssigkeit in die Bürette unterhalb des Kommunikationshahnes und damit in die Flasche zurücklaufen läßt.

2) Kolben zum Aufbewahren von feuchten Nährböden. Ein Kolben von Jenaer Glas besitzt etwa 1 cm über dem Boden ein Abflußrohr von etwa 3 cm Länge, an dem ein mit Quetschhahn verschlossenes Stückchen Gummischlauch angesteckt ist, das mit einem Glasrohr mündet. Verschlossen ist der Kolben mit einem Gummistopfen, durch den ein van Hest'scher Verschluß geht. Dieser besteht aus einem Messing- oder Kupferrohr, das 16 mal hin und her gebogen ist. Zu beachten ist dabei, daß das Rohr nicht gelötet ist, da es an den Lötstellen beim Biegen leicht undicht wird. Nachdem der Kolben mit Inhalt sterilisiert worden ist, wird einfach die gewünschte Menge durch den Hahn abgelassen, der Rest kann lange Zeit ohne daß Verunreinigung zu fürchten ist und ohne daß ein Eintrocknen stattfindet, aufbewahrt werden. Beim Gebrauch ist das Ansatzstück zu flambieren, eventuell kann dasselbe noch durch einen besonderen Verschluß geschützt werden.

3) Der Cylinder für steriles Wasser ist eine Abänderung dieses Kolbens und besteht aus einem verzinnten Messingcylinder mit Wasserstandsrohr, van Hest'schem Verschluß und Ablaufhahn, dessen Glasansatz vor jedesmaligem Gebrauch zu sterilisieren ist.

4) Apparat zur Wasserentnahme aus Tiefen für bakteriologische Untersuchungen. Es handelt sich im wesentlichen um den 1894 von Pleteneff und Sselesneff beschriebenen Apparat, der auch in Deutschland in verschiedenen Laboratorien im Gebrauch ist.

5) Behälter zum Transport der Flaschen mit den Wasserproben behufs bakteriologischer Untersuchung. Der Behälter besteht aus einem Messingtopf, der mit Filz und Wachstuch überzogen ist. Im Inneren ist am Boden und an der Decke je eine Pfanne für Eis, die beide einen vom Boden des Behälters abgehenden Ablauf haben. In den Behälter werden drei Etagen eingesetzt, auf denen je 10 Flaschen in Ringen stehen. Die Flaschen, die zwar sterilisiert sind, werden noch durch Zinnklappen geschützt oder man stellt sie einzeln in besondere Kapseln, in denen sie sterilisiert werden.

6) Bürette zum Bereiten genau dosierter Verdünnungen der Wasserproben behufs bakteriologischer Untersuchungen. Der Apparat ist ein etwas komplizierter, bewährt sich aber nach den Ausführungen des Verf.'s gut, wenn es sich darum handelt, massenhaft jene dosierten Verdünnungen herzustellen. Wegen seiner Einrichtung muß auf das Originnl verwiesen werden.

7) Trichter zur bequemen Entnahme von Bodensätzen aus Wässern zwecks mikroskopischer Wasseruntersuchung. Da bei der Untersuchung von Wässern auf feste Substanzen das Absetzenlassen nicht völlig genügend wirkt, andererseits beim Filtrieren die Fasern die aus dem Filter stammen, leicht Verunreinigung mit Gewebefasern vortäuschen können, schlägt Verf. vor, die Filter zu färben und zwar entweder mit saueren Farben, die mit der Cellulose eine Verbindung eingehen oder mit sogenannter unauslöschlicher Tinte. Zum Aufnehmen von Bodensätzen aber wendet er folgenden Trichter an: Ein steilwandiger Trichter trägt an seinem Ausflußrohre zwei Hähne, welche etwa 3 cm voneinander entfernt sind, und so durchbohrt sind, daß ihre Durchbohrung ebenso weit, wie das Lumen des Rohres ist. Von der dadurch gebildeten Kammer aus geht ein Glasrohr außen am Trichter aufwärts, das in einem mit einem Quetschhahn verschlossenen Gummischlauch endet. Läßt man nun bei geschlossenen Hähnen das Wasser in den Trichter absetzen und öffnet den oberen Hahn, so bleibt die Kammer mit leer. Sobald man dann den Quetschhahn auf einen Moment öffnet, fließt der Bodensatz mit nur ganz wenig Wasser ab, und man kann denselben nach Schließung des oberen Hahnes dann durch den unteren Hahn ablassen.

Appel (Charlottenburg).

Corrigendum.

S. 254 Zeile 19 von oben ist „Castagneï Lév." statt „Mali Burr." zu lesen.

Neue Litteratur,

zusammengestellt von
San.-Rat Dr. Arthur Würzburg,
Bibliothekar im Kaiserl. Gesundheitsamte in Berlin.

Untersuchungsmethoden, Instrumente etc.

Schaffer, J., Eine Zuschneidevorrichtung für Paraffinblöcke. (Ztschr. f. wissenschaftl. Mikrosk. Bd. XVI. 1900. Heft 4. p. 417—421.)
— —, Eine einfache Vorrichtung zum raschen Entwässern histologischer Objekte. (Ibid. p. 422—425.)

Systematik, Morphologie und Biologie.

Abelous, E. et **Gérard, E.**, Transformation de la nitrobenzine en phénylamine ou aniline par un ferment réducteur et hydrogénant de l'organisme. (Compt. rend. de l'acad. d. scienc. T. CXXX. 1900. No. 7. p. 420—422.)
Baldrati, J, Appunti di cecidiologia. (Nuovo Giorn. botan. ital. N. S. Vol. VII. 1900. No. 1. p. 5—95.)
Dietel, P., Ueber die Teleutosporenform der Uredo Polypodii (Pers.) (Beibl. z. Hedwigia. 1899. No. 6. p. 259—260.)
Fischer, E., Recherches sur les urédinées suisses. (Rev. mycol. 1900. No. 85. p. 1—11.)
Harper, R. A., Nuclear phenomena in certain stages in the development of the smuts. (Transact. of the Wisconsin acad. of scienc., arts and letters. Vol. XII. 1899. p. 475—498.)
Hume, H. H., Some peculiarities in Puccinia teleutospores. (Botan. Gaz. 1899. No. 6. p. 418—423.)
Macbride, Th. H., On studying slime moulds. (Journ. of applied microsc. Vol. II. 1899. No. 12. p. 625—627.)
Marbach, A., Jahresbericht über die Fortschritte der Gärungstechnik mit besonderer Berücksichtigung der Preßhefe- und Spiritusindustrie. (Oesterr. Chemiker-Ztg. 1900. No. 5. p. 106—108.)
Mathieu, L., L'origine des levures de vin. (Rev. de viticult. 1900. No. 323. p. 224—226.)
May, W., Ueber die Larven einiger Aspidiotus-Arten. (Stat. f. Pflanzenschutz in Hamburg I. 1898/99.) gr. 8°. 5 p. Hamburg 1899.
— —, Ueber das Ventralschild der Diaspinen. (Ibid.) gr. 8°. 5 p. Hamburg 1899.
Mayer, A., Ueber die Verteilung der diastatischen Enzyme in der Kartoffelpflanze. (Journ. f. Landwirtsch. 1900. Heft 1. p. 67—70.)
Sauvageau, C., Influence d'un parasite sur la plante hospitalière. (Compt. rend. de l'acad. d. scienc. T. CXXX. 1900. No. 6. p. 343—344.)
v. Schrenk, H., Notes on Arceuthobium pusillum. (Rhodora. 1900. No. 13. p. 2—5.)
Schulz, R., Beschreibung eines Bacillus, welcher dem Milzbranderreger sehr ähnlich ist. (Mitteil. d. landwirtschaftl. Institute d. kgl. Univers. Breslau. 1900. Heft 3. p. 41—43.)
Stutzer, A., Beiträge zur Morphologie der als „Bacterium radicicola" beschriebenen Organismen. [I. Mitteil.] (Mitteil. d. landwirtschaftl. Institute d. kgl. Univers. Breslau. 1900. Heft 3. p. 57—71.)
Vuillemin, P., Développement des azygospores d'Entomophthora. (Compt. rend. de l'acad. d. scienc. T. CXXX. 1900. No. 8. p. 522—524.)

Beziehungen der Bakterien und Parasiten zur unbelebten Natur.

Nahrungs- und Genußmittel, Gebrauchsgegenstände.

Bier, Brauerei.

v. Kujawski, K., Notiz über Saccharomyces anomalus. (Ztschr. f. d. ges. Brauwesen. 1900. No. 8. p. 111—112.)
Will, H., Zur Anomalus-Frage. Erwiderung an Herrn v. Kujawski. (Ztschr. f. d. ges. Brauwesen. 1900. No. 9. p. 121—123.)
Windisch, W., Ueber den Einfluß der schwefligen Säure auf den Geruch und Geschmack des Bieres. (Wchschr. f. Brauerei. 1900. No. 7. p. 91—92.)

Wein, Weinbereitung.

Dugast, J., Emploi de la glace pour la réfrigération des moûts de fermentation. (Rev. de viticult. 1900. No. 322. p. 177—180.)

Andere Nahrungs- und Genußmittel.

Brick, C., Das amerikanische Obst und seine Parasiten. (Stat. f. Pflanzenschutz in Hamburg I. 1898/1899.) gr. 8°. 34 p. Hamburg 1899.

Reh, L., Untersuchungen an amerikanischen Obstschildläusen. (Stat. f. Pflanzenschutz in Hamburg I. 1898/99.) gr. 8°. 19 p. Hamburg 1899.

Wohnungen, Abfallstoffe etc.

Abba, F. e **Rondelli, A.**, Ulteriori esperienze di disinfezione degli ambienti cogli apparecchi formogeni Flügge e Schering (Esculapio combinato). [Terza memoria.] (Giorn. d. r. soc. ital. d'igiene. 1900. No. 2. p. 49—76.)

Barone, V., La formaldeide gassosa e la disinfezione degli ambienti (glicoformal ed igazolo). (Annali d'igiene sperim. Vol. IX. 1899. Fasc. 4. p. 463—482.)

Beziehungen der Bakterien und Parasiten zu Pflanzen.
Krankheitserregende Bakterien und Parasiten.

Behrens, J., Kann der Winterfrost die Schmarotzerpilze der Rebe vernichten? (Mitteil. üb. Weinbau u. Kellerwirtsch. 1900. No. 2. p. 17—20.)

— —, Ueber die Art und Weise der Wirkung von Kupfervitriol und Schwefel gegen gewisse Krankheitserreger unserer Kulturpflanzen. (Wchbl. d. landwirtschaftl. Ver. im Großherzogtum Baden. 1900. No. 9. p. 110—113.)

Blofsfeld, J., Zum Artikel des Herrn Geh. Regierungsrat Prof. Dr. Frank-Berlin über „Gürtelschorf der Zuckerrübe". (Blätter f. Zuckerrübenbau. 1900. No. 4. p. 61—62.)

Fernald, M. L., Arceuthobium pusillum in the St. John and St. Lawrence valleys. (Rhodora. 1900. No. 13. p. 10—11.)

Frank, A. B. u. **Krüger, F.**, Schildlausbuch. Beschreibung und Bekämpfung der für den deutschen Obst- und Weinbau wichtigsten Schildläuse. Bearb. für die Praxis. gr. 8°. VIII, 120 p. Mit 59 Textabbildgn. u. 2 Farbendr.-Taf. Berlin (Paul Parey) 1900. 4 M.

Fuchs, F., Ueber einige neue forstschädliche Tipuliden-Arten. (Forstwissensch. Centralbl. 1900. Heft 3. p. 134—138.)

Hitchcock, A. S., Note on corn smut. (Botan. Gaz. 1899. No. 6. p. 429—430.)

Immel, Bericht an das großherzogl. Staatsministerium, betr. Beobachtungen über die Ausbreitung der Fusicladium- oder Schorfkrankheit an den Kernobstbäumen im Herzogtum Oldenburg während d. J. 1899. (Landwirtschafts-Bl. f. d. Herzogtum Oldenburg. 1900. No. 5. p. 72—75.)

Jack, J. G., Arceuthobium pusillum on a new host in Vermont. (Rhodora. 1900. No. 23. p. 8—9.)

de Jaczewsky, A., Note sur le black rot du Caucase. (Rev. de viticult. 1900. No. 322. p. 197—199.)

Johnson, W. G., The destructive pea louse, a new and important economic species of the genus Nectarophora. (Proceed. 11. meet. assoc. econ. entomol. U. S. Dept. Agricult., Div. entomol., Bullet. 20. N. S. 1899. p. 94—99.)

Magnus, P., Ueber einige auf unseren Obstarten auftretende Mehltauarten. (Gartenflora. 1900. Heft 3. p. 58—60.)

Maire, R., Un parasite d'Encelia tomentosa nov. sp. (Bullet. de l'acad. internat. de géogr. botan. 1900. No. 123. p. 42.)

Marlatt, C. L., La lutte contre les insectes nuisibles. (Rev. scientif. 1900. No. 9. p. 257—264.)

Mohr, K., Ueber die Kupferkalkbrühe als Kryptogamicid. (Ztschr. f. Pflanzenkrankh. Bd. IX. 1899. Heft 6. p. 346—348.)

Nefsler, J., Die Bekämpfung der Blattfallkrankheit und zwangsweises und gemeinschaftliches Bekämpfen der Rebkrankheiten. (Wchbl. d. landwirtschaftl. Vereins im Großherzogtum Baden. 1900. No. 8. p. 96—97.)

Pérez, Ch., Sur un épicaride nouveau, le Crinoniscus equitans. (Compt. rend. de l'acad. d. scienc. T. CXXX. 1900. No. 8. p. 520—522.)

Prillieux et **Delacroix**, Sur une maladie des raisins des vignes du Caucase. (Compt. rend. de l'acad. d. scienc. T. CXXX. 1900. No. 6. p. 298—301.)

Richter v. Binnenthal, F., Die Feinde der Rosen aus dem Tier- und Pflanzenreich. Teil II. Die pflanzlichen Schädlinge. (Mitteil. d. k. k. Gartenbau-Gesellsch. in Steiermark. 1900. No. 2. p. 18—22.)
Rothert, W., Ueber Sklerotien in den Früchten von Melampyrum pratense. (Flora. 1900. Heft 1. p. 98—108.)
Schuster, J., Die Bekämpfung der Traubenkrankheit oder des Oïdium. (Allg. Wein-Ztg. 1900. No. 6. p. 52—53.)
Senderens, J. B., Expériences sur le traitement du black-rot en 1899 dans la Haute-Garonne et dans le Bas-Armagnac. (Vigne franç. 1900. No. 1. p. 7—8.)
Sorauer, P., Das Kirschbaumsterben am Rhein. (Dtsche landwirtschaftl. Presse. 1900. No. 18. p. 201.)
Sorauer, P., Der „Vermehrungspilz". (Ztschr. f. Pflanzenkrankh. Bd. IX. 1899. Heft 6. p. 321—328.)
Sorko, L., Neuerungen auf dem Gebiete der Peronospora- und Oïdiumbekämpfung. (Weinlaube. 1900. No. 8. p. 86—89.)
de Stefani-Perez, T., I zoocecidii della vite e del fico. (Estr. d. Nuovi annali di agricolt. sicilian. 1899. Fasc. 3.)
v. Tubeuf, C., Die Ueberwinterung und Verbreitung des Gitterrostes der Birnbäume. (Dtsche landwirtschaftl. Presse. 1900. No. 19. p. 216—217.)
d'Utra, G., Micro-parasitas do trigo. III e IV. (Bolet. do Instit. agronom. do Estado de São Paulo em Campinas. 1899. No. 5. p. 273—283.)
— —, Micro-parasitas da canna de assucar. (Ibid. p. 284—292.)
— —, Sobre as anguillulas do caffeeiro. (Ibid. p. 319—322.)
Weifs, Die Schorfkrankheit des Kernobstes und seine Bekämpfung. (Prakt. Blätter f. Pflanzenschutz. 1900. Heft 2. p. 9—11.)
Wilcox, E. V., The grain aphis (Siphonophora avenae); an army cutworm (Chorizagrotis agrestis). (Montana agr. stat. bullet. 1899. No. 17. 18 p.)
Wilfarth, H. u. Wimmer, G., Die Bekämpfung des Wurzelbrandes der Rüben durch Samenbeizung. (Ztschr. d. Vereins d. dtsch. Zucker-Industrie. 1900. Febr. p. 159—173.)
Wilfarth, H., Ein neuer Gesichtspunkt zur Bekämpfung der Nematoden. (Ztschr. d. Vereins d. dtsch. Zucker-Industrie. 1900. Febr. p. 195—204.)
Wortmann, J., Beobachtungen über das Auftreten von Oïdium Tuckeri, sowie einige Vorschläge zur Bekämpfung dieses Pilzes. (Weinbau u. Weinhandel. 1900. No. 4, 6. p. 25—26, 51.)

Inhalt.

CENTRALBLATT
für
Bakteriologie, Parasitenkunde u. Infektionskrankheiten.

Zweite Abteilung:
Allgemeine, landwirtschaftlich-technologische Bakteriologie, Gärungsphysiologie, Pflanzenpathologie und Pflanzenschutz.

In Verbindung mit
Prof. Dr. Adametz in Wien, Prof. Dr. J. Behrens in Karlsruhe i. B., Prof. Dr. M. W. Beijerinck in Delft, Geh. Regierungsrat Prof. Dr. A. B. Frank in Berlin, Dr. v. Freudenreich in Bern, Privatdocent Dr. Lindau in Berlin, Prof. Dr. Lindner in Berlin, Dr. Morris, Chef des Hansen-Laboratory, Jenner-Institute of Preventive Medicine in London, Prof. Dr. Müller-Thurgau in Wädensweil, Dr. Erwin F. Smith in Washington, D. C., U. S. A., Prof. Dr. Stutzer in Breslau, Prof. Dr. Wehmer in Hannover, Prof. Dr. Weigmann in Kiel und Prof. Dr. Winogradsky in St. Petersburg
herausgegeben von
Dr. O. Uhlworm in Cassel
und
Prof. Dr. Emil Christian Hansen in Kopenhagen.

Verlag von Gustav Fischer in Jena.

VI. Bd. Jena, den 30. Mai 1900. No. 11.

Jährlich erscheinen 26 Nummern. Preis für den Band (Jahrgang) 20 Mark.
Preis für eine einfache Nummer 75 Pfg., für eine Doppelnummer 1 Mark 50 Pfg.
Nummern mit Tafeln kosten für jede Tafel 50 Pfg. mehr.
Hierzu als regelmäfsige Beilage die Inhaltsübersichten der I. Abteilung des Centralblattes.

Original-Mitteilungen.

Studien über technische Pilze. VII[1]).

Die „Chinesische Hefe“ und der sogenannte Amylomyces (= Mucor Rouxii).

[Aus dem Technisch-chem. Laboratorium der Technischen Hochschule zu Hannover.]

Von C. Wehmer.

Mit 2 Tafeln.

Chinesische „Hefe“ ist bekanntlich jener in Ostasien gewerblich hergestellte eigenartige Hilfsstoff, dessen sich dort die „Brenner“ bei

1) Fortsetzung von: I. Zwei neue Schimmelpilze als Erreger einer Citronensäuregärung. (Beitr. z. Kenntn. einheim. Pilze. Bd. I. 1893); II. Aspergillus Oryzae, Pilz der

der Verarbeitung des Reis zur Einleitung von Verzuckerung und Gärung bedienen; der Name für diese geformten Reismehlkuchen — deren Masse dicht mit Keimen zucker- und alkoholbildender Organismen durchsetzt ist — erscheint freilich nicht gerade sehr gut gewählt, läßt sich heute aber kaum wieder beseitigen; zutreffender wäre hier schon die Bezeichnung „Ferment“. Ueber dies eigenartige Material wissen wir heute noch wenig Genaueres, so daß seine weitere Bearbeitung wünschenswert war. Diese ergab mir nur u. a. zwei von der bisherigen Meinung wesentlich abweichende Punkte, die ich hier kurz vorwegnehme: Der nach Meinung Calmette's sporenlose Pilz („Amylomyces“) ist eine echte, zudem wissenschaftlich recht interessante neue Mucor-Art, deren Entwickelung und Verhalten ich ziemlich lückenlos verfolgt habe; weiterhin macht aber nicht dieser, sondern ein anderer Mucor den Hauptbestandteil der von mir untersuchten Chinesischen „Hefe“ (aus Singapore) aus. Das Material der „Hefe“ ist hiernach also nicht immer gleichartig und ich füge hinzu, daß dieser zweite fremde Mucor auch in meinem Materiale von javanischem „Ragi“ überreich vorhanden ist. Auf das Einzelne ist weiterhin näher einzugehen; für die Bearbeitung und den näheren Vergleich standen mir neben chinesischem und javanischem „Hefe“-Material auch die den bezüglichen Autoren vorgelegenen Reinkulturen der einzelnen Arten zur Verfügung.

1. Die Chinesische Hefe.

Gestalt und Größe mag durch die Abbildung auf Taf. I illustriert werden; ob das immer gleich ist, lasse ich dahingestellt; jedenfalls weicht mein javanischer „Ragi“ — im Prinzip das gleiche Material — darin schon etwas ab, ist weniger zierlich und zeigt nicht die centrale Durchbrechung, es mögen darin also Unterschiede — je nach dem Fabrikanten — vorkommen. Das abgebildete Material verdanke ich Herrn Brennereiverwalter C. Fettschlag in Domsen[1]), der davon zwecks Verwendung im Betriebe von einer deutschen Firma in Singapore sich hatte senden lassen. Das bislang einzige über die Chinesische Hefe (Saïgon) Bekannte stammt von Calmette[2]), Proben derselben sind bislang — meines Wissens — nach Deutschland sonst nicht gekommen, jedenfalls ist darüber nichts bekannt geworden; das rechtfertigt wohl diese kurze Erörterung. An Ort und Stelle

Sakebrauerei. (Centralbl. f. Bakt.. II. Abt. 1895. p. 150); III. Sakebrauerei und Pilzverzuckerung. (Ebenda. 1895. p. 565 ff.); IV. Aspergillus Wentii, ein neuer technischer Pilz Javas. (Ebenda. 1896. p. 140): V. Ueber einige weitere freie Citronensäure bildende Pilze. (Chemiker-Zeitung. 1897. No. 98); VI. Zur Bakteriologie und Chemie der Häringslake. (Centralbl. f. Bakt. II. Abt. 1897. p. 209 u. Abhandl. d. Dtsch. Seefischerei-Vereins. Bd. III. 1898.)

1) Ueber seine Versuche im Betriebe teilte mir Herr Fettschlag mit, daß er thatsächlich mit der chinesischen Hefe eine Malzersparnis erzielt habe (ca. $^1/_8$—$^1/_2$). Uebrigens ist es nicht ohne Interesse, zu sehen, wie ein deutscher Brenner, angeregt durch die damals in die Presse gelangten Mitteilungen über den Amylomyces, bereits vor 2 Jahren eine praktische Verwendung, und zwar ganz auf eigene Hand, versuchte. Das Brennereigewerbe gilt sonst Neuerungen gegenüber bekanntlich als recht konservativ — nicht gerade immer ein Lob.

2) S. unten.

heißt sie nach meinem Gewährsmann „Chew“ oder „Pia“, malayisch „Ragi“[1]).

Die Härte der nicht unangenehm schwach mehlig-schimmelig riechenden, äußerlich gelblich-weißen, im Bruch kreidigen „Kuchen“ ist nur mäßig, man zerbröckelt sie zwischen den Fingern leicht zu einem groben Pulver, wie das ja auch ihre Verwendungsart — man bestreut den zu verzuckernden gedämpften Reis mit dem Pulver — verlangt. Diese Masse besteht aus einem ziemlich groben, unveränderten Reismehl, dessen Gehalt an Pilzelementen (Hyphenstücke, Gemmen) mikroskopisch leicht hervortritt[2]). Bekanntlich formt man sie aus mit Wasser angeriebenem Mehle (wobei allerlei beliebte Zuthaten, wie aromatische Kräuter, Zucker etc. offenbar ziemlich überflüssig sind), läßt leichte Schimmelbildung eintreten und trocknet an der Sonne; damit ist die Ware marktfähig. Der die späteren Pilzkeime liefernde Schimmel soll — was wohl verständlich — stets von selbst in richtiger Weise eintreten (anhaftende Keime), ob nicht auch da gelegentlich direkte Aussaat stattfindet, halte ich für nicht unmöglich. Immerhin werden wir aber schon deshalb mit einer gewissen Variabilität rechnen müssen.

Die verhältnismäßig zierliche Form, welche vielleicht durch Pressen erzielt wird und möglicherweise mit dem Trocknen auf Schnüren zusammenhängt, deutet wohl eine etwas höhere Stufe in der Fabrikation — dies Gewerbe wird nur von Chinesen betrieben — an; im einfachsten Falle sind die Kuchen ziemlich roh geformt und unseren „Pfeffernüssen“ gestaltlich ähnlich, also ohne Durchbrechung oben schwach gewölbt, unten abgeplattet. Die historische Entwickelung der Kunst in der Bereitung und Anwendung dieses Materials in China näher zu untersuchen, wäre vielleicht nicht uninteressant; allerdings ist ja der Mensch, wo es sich um Herstellung alkoholischer Getränke handelt, schon immer recht erfinderisch gewesen.

Auch kulturell läßt sich der Reichtum an lebensfähigen Organismen leicht darthun; zerrieben, mit Wasser oder Zuckerlösung befeuchtet und so auf Platten ausgegossen, beginnt alsbald eine lebhafte Schimmelbildung, die ganz vorzugsweise Mucorieen angehört. Diese Thatsache ist fast auffällig und giebt zu denken; es ist doch nicht rein zufällig, daß andere gemeine Schimmelformen, die dort zu Lande ebensowenig fehlen und dem Materiale gerade so gut anhaften wie Mucor-Species, stark zurücktreten und auf ihm kaum zur Entwickelung kommen. Offenbar hängt das mit der Ernährungsphysiologie dieser Arten zusammen, das stickstoffarme Substrat sagt vorzugsweise diesen Stärke leicht konsumierenden Mucorineen zu und Fälle ähnlicher Art kennt man ja auch sonst. Der Uebertragung

1) Letzteres deckt sich also mit der von Went und Prinsen-Geerligs gewählten Bezeichnung (Java).

2) Allerdings nicht ohne weiteres; die pulverige Stärke verdeckt im Präparate alles andere und muß zuvor weggeschwemmt werden, was unter Deckglas unschwer gelingt; cf. Fig. 3 der Taf. I, die nach solchem Präparate gezeichnet wurde. Uebrigens kann man auch wie bei Mehluntersuchungen die Stärke durch Verzuckerung fortschaffen.

dieser Keime durch Reisspelzen und dergleichen messe ich also kaum Gewicht bei, ohne den angedeuteten Umstand wäre das ziemlich nutzlos und sie würden wohl doch erscheinen (Luftinfektion, Staub, wenn das auch nicht der Fall wäre. Die Beziehungen zwischen Boden und Flora regeln sich ja gutenteils nach chemischen Gesichtspunkten.

Die Isolierung der Arten aus den Reismehlkuchen vollzieht sich ohne Schwierigkeiten; die bemerkenswerteren derselben werden unten für sich besprochen werden. Dabei hat sich mancherlei Interessantes ergeben, von dem mir besonders auch das sehr reichliche Vorkommen einer dem Mucor circinelloides recht ähnlichen Art erwähnenswert scheint[1]). Der sicheren Identifizierung dieser Mucorineen bereitet allerdings der augenblickliche Stand der Litteratur einige Schwierigkeiten, so daß man darin dem Wunsche A. Fischer's[2]) nach einer genaueren Durcharbeitung dieser Gattung nur beipflichten kann. Immerhin ist zunächst der Mucor Rouxii eine sichere neue Species, inwieweit auch die anderen, mag unten näher erörtert werden. Die Kultur einer Art auf verschiedenen Substraten scheint nach meinen Erfahrungen und zwar vor der Beschreibung durchaus erforderlich, man hat ohnedies mit manchen Schwierigkeiten bezüglich der Sporangienträger zu kämpfen; gelegentlich werden diese derart, daß man die Arbeit am liebsten bei Seite legte. Physiologische Merkmale sind mehrfach ein brauchbarer Anhalt, ich betone sie also, wo zweckmäßig.

Die Litteratur — so weit es sich um rein wissenschaftliche handelt — über „Chinesische Hefe" und ihre Pilze ist dürftig, in Frage kommt nur eine Mitteilung Calmette's[3]) nebst kurzen Angaben Eijkman's[4]); diejenige über den javanischen „Ragi" wird weiterhin bei diesem erwähnt. Calmette, der die „levure chinoise" zuerst beschrieb, nannte den isolierten Mucor auf Grund der mangelnden Sporangienträger und im Zweifel über die systematische Stellung Amylomyces Rouxii; insbesondere beschäftigte er sich mit dessen Verzuckerungsvermögen, stellte auch Säure- wie Alkoholbildung fest. Er läßt ihn aber submers wie als Luftmycel wachsen, überdies Gelatine verflüssigen und bei 35—38 ^{0} C optimal gedeihen. Das trifft nicht alles unbedingt zu; Luftmycel und Gelatineverflüssigung zumal habe ich nur sehr dürftig oder gar nicht gesehen, vielleicht hat auch Calmette seine schon vor ca. 10 Jahren gemachten Beobachtungen inzwischen dementsprechend erweitert.

Vor allem habe ich aber bei dem Pilze gut ausgebildete Sporangien gefunden, wenn solche auch sparsamer und nicht gerade auf jedem Substrate entstehen, vor allem aber sehr unscheinbar sind, so daß sie deutlich nur mit Lupe bez. mikroskopisch hervortreten.

1) Diese auch im „Ragi" vorhandene Art wird bei Besprechung des letzteren beschrieben werden.

2) Rabenhorst, Kryptogamenflora. 2. Aufl. Bd. I. 4. Abt. Phycomycetes. p. 184. Leipzig 1892.

3) La levure chinoise. (Ann. de l'Inst. Pasteur. 1892. T. VI.)

4) Mikrobiologisches über die Arakfabrikation Batavias. (Centralbl. f. Bakt. Bd. XVI. 1894. p. 99.)

Das erklärt auch wohl ihr früheres Uebersehen. Ein Zweifel über die Zugehörigkeit zu der Calmette'schen Art ist ausgeschlossen, da ich diese selbst in Kultur habe, an ihr also die Feststellungen machen konnte [1]). Nach der näheren Untersuchung handelt es sich also nur noch um den richtigen Namen. Die Art ist zweifellos neu, sie ist also als Mucor Rouxii (Calm.) zu benennen [2]), womit der alte anfechtbare Name auch wegfällt; er dürfte freilich so rasch nicht verschwinden, wäre übrigens als Trivialname („Amylomyces“) auch wohl weiterhin zulässig.

Etwas später hat sich Eijkman noch mit der aus Cochinchina (Saïgon) bezogenen Chinesischen Hefe — vergleichsweise mit Material javanischen Ursprungs — beschäftigt. Derselbe glaubte schon, den Calmette'schen Pilz als einen Mucor deuten zu müssen, ist aber offenbar einem naheliegenden Irrtume zum Opfer gefallen, denn er wirft alle Mucor-Arten der Reismehlkuchen als Varietäten einer einzigen zusammen; was er beschreibt und abbildet, hat mit dem Mucor Rouxii nichts zu schaffen, ersichtlich hat er mit Arten wie Rhizopus Oryzae, Mucor javanicus (s. unten) u. a. zu thun, wie das ohne Auseinanderziehen in Reinkulturen auch nicht anders möglich ist. Die richtige Beobachtung, daß aus der chinesischen Hefe beim Anfeuchten etc. unschwer stattliche Sporangienträger von Mucorineen hervorwachsen — aber solche von M. javanicus, Rhizopus u. a.! — verleitet ihn, diese zu dem obigen — nur dürftige minimale Sporangienträger bildenden — Pilz zu ziehen. Solche des letzteren hat er seiner Beschreibung nach überall nicht gesehen, das war bei der Art der Versuchsanordnung überhaupt ausgeschlossen.

Die spätere Litteratur [3]) über den „Amylomyces“ bringt morphologisch nichts Neues, sie verfolgt nur chemisch-physiologische Fragen mit technischem Hintergrunde.

2. Mucor Rouxii (= Amylomyces R. Calm.).

(Taf. I. Fig. 9—13, sowie Taf. II.)

A. Morphologisches.

Die Vegetationen des Pilzes auf den verschiedenen Substraten sind gewöhnlich unscheinbar, wenig in die Augen fallend; das bei 15—20° C minder vegetationskräftige Mycel gleicht sonst dem anderer Arten. In Flüssigkeiten (Zuckerlösung mit Nährsalzen) bildet es vorwiegend helle, submerse Flocken oder größere, untergetaucht flottierende Massen von grauer Farbe, seltener aber Decken (Würze); auf festen Substraten vegetiert es auch oberflächlich etwas ergiebiger als fädige helle Masse bez. ziemlich lockerer, grauer oder gelblicher Fadenbelag, der gewöhnlich nicht merklich in den Luftraum hinauswächst. Eine etwas massigere und schnellere Entwickelung läßt sich im allgemeinen nur im Brütschranke auf gedämpftem Reis oder Würze

---

1) Ich verdanke dieselbe dem Král'schen Laboratorium zu Prag.

2) Richtiger wäre vielleicht M. Rouxianus.

3) Zusammenstellung s. Zeitschr. f. Spiritusindustrie. 1898. Ergänzungsheft 1. p. 50 ff. In Ergänzungsheft 1. 1899 weiterhin eine Besprechung des Pilzmaischverfahrens von M. Delbrück.

erzielen, wie denn der Pilz überhaupt sehr lebhaft auf Wärme- oder Substratdifferenzen reagiert.

Die Sporangienträger-Rasen sind sehr zart, locker und niedrig, meist mit sparsamen Trägern, die für das bloße Auge kaum hervortreten, mit Lupe aber deutlich werden, farblos-glasig, seltener gelblich-grau mit Stich ins Hellbräunliche. Man übersieht die Träger leicht, wenn man nicht besonders danach sucht und hält so die lockeren Rasen mit ihren hellen tröpfchenartigen Sporangien für steril. Am deutlichsten erhält man sie noch auf gedämpftem Reis, seltener auf Würze, Zuckeragar oder Gelatine, wo sie aber kaum ohne Lupenbetrachtung auffindbar sind. Unter den bislang bekannten ist die Art also wohl mit die kleinste.

Der Sporangienträger ist meist schwach verzweigt, aufrecht mit meist 2 (seltener 3) Sporangien, die Art der Verzweigung nicht immer gleich, mehrfach aber deutlich sympodial; Stiele von wechselnder Länge, gerade oder gebogen bis nickend, farblos. Das Substrat spricht dabei wesentlich mit und scheint die ohnedies vorhandene Neigung zur Variabilität noch mehr zu begünstigen. Längere aufrechte Träger wurden besonders auf Reis gefunden, mehr zierlich und elegant waren sie auf Würze oder Zuckeragar (cf. Abbild.). Im allgemeinen darf man 2 Sporangien als Regel ansehen. Die Stieldicke nimmt gegen die Spitze hin merklich ab.

Sporangien hell, glasig, unter Mikroskop gelblich bis hellgelbbraun, kugelig, oft mit schwacher Verkürzung der Längsachse, meist gleichgroß (ca. 50 μ Durchmesser) und gleichartig, mit durchscheinender glatter Wand, von der beim Zerfall stets ansehnliche Reste zurückbleiben (Kragen). Columella groß, nicht aufsitzend, kugelig, mit der gleichen schwachen Abplattung wie das Sporangium (ca. 10 Proz.), von annähernd halbem Durchmesser dieses, glatt, farblos.

Sporen farblos, alle ziemlich gleich an Gestalt und Größe, länglich walzlich ($5 \times 2{,}8\ \mu$), seltener mehr kugelig (4—5 μ Durchmesser), dünn und glattwandig, glänzend; oft mit körnigem, ungleich verteiltem und selbst partiell kontrahiertem Plasma, somit ein etwas eigenartiges Aussehen zeigend (cf. Abbild.). In großer Zahl füllen sie das Sporangium dicht aus und erscheinen nur in größerer Anhäufung mit der schwachen Färbung dieser, die aber meistens ja schon an sich wenig hervortritt.

Die Gemmen (Chlamydosporen), gewöhnlich leicht und sehr zahlreich sich bildend, erreichen bisweilen außerordentliche Größe neben sehr regelmäßiger Gestalt und stellen dann bräunlich-gelbe regelmäßige Kugeln von bis ca. 100 μ Durchmesser dar (so in alten Kulturen in Zuckerlösung). In anderen Fällen sind sie bei der Reife mehr oval, citronenförmig (Reis) oder auch unregelmäßiger gestaltet und von jeder beliebigen Dimension (von ca. 10 μ Dicke an, gewöhnlich 12—22 μ). Sie sind bald ganz farblos, bald heller oder auch dunklergelb bis hellbraun gefärbt, meist mit sehr derber, oft sogar kolossal dicker (farbloser, glatter) Wand, die als solche bei farbigen Exemplaren leicht plasmolytisch deutlich zu machen ist. Jene großen, streng kugeligen, in den Präparaten oft frei umherschwimmenden

Exemplare könnte man zunächst für Zygosporen halten, genauerer Verfolg ergiebt aber unschwer den wirklichen Sachverhalt (cf. Abbild. Taf. I, Fig. 7).

Zygosporen wie auch sogenannte „Hefebildung“ kamen nirgends zur Beobachtung; in den das flottierende Mycel umgebenden klarbleibenden Zuckerlösungen finden Sprossungsvorgänge nicht statt.

Mißbildungen. Der Pilz ist ein interessantes Beispiel für das Fehlschlagen von Sporangien. Die Neigung zur Sporangienbildung ist bei dieser Art nach dem oben Angeführten überhaupt wenig hervortretend — Hauptfortpflanzungsorgane sind die Gemmen — dazu kommt nun noch, daß diese Organe nicht selten schon auf dem halben Wege der Entwickelung stehen bleiben und dann entweder verkümmernd ganz steril bleiben (Taf. II, Fig. 2, 4, 6) oder — was noch eigenartiger — kurzer Hand wieder zu einem Faden als Fortsetzung des Trägers auswachsen (Taf. II, Fig. 1, 3, 4). Es keimt also das Sporangium noch vor der Sporenbildung gerade wie eine Spore mit einem „Keimschlauche“ (Fig. 4) aus — in gänzlicher Mißverkennung seiner eigentlichen „Aufgabe“. Für Beurteilung dieser pathologischen Erscheinungen ist es interessant, festzustellen, daß sie meist nicht etwa regellos und zufällig eintreten, sondern durch die Art der Kultur — also äußere Umstände — mit bedingt werden, denn sie treten nicht auf Reis — wo ich sie jedenfalls nicht sah — sondern gerade auf Agar und zwar hier regelmäßig und zahlreich auf, so daß da gewöhnlich überhaupt keine Sporen zur Reife kommen, sondern fast alle Sporangien[1]) der mehr oder minder verzweigten Träger fehlschlagen (Taf. II, Fig. 1—6). Der benutzte Nähragar (Agar 2 Proz., Zucker 2 Proz. mit einer Spur Gelatine und anorganischen Salzen 0,2 Proz.) ist, wie auch schon die vegetative Entwickelung des Pilzes andeutet, für diesen unstreitig ein ziemlich mäßiges Substrat, so daß man wohl direkt die „schlechtere“ (relativ unzureichende) Ernährung für den eigenartigen Effekt mit verantwortlich machen darf. Es kommt nur zu einer sich fortlaufend wiederholenden verunglückten Sporangienbildung, was allerdings sonst ja nicht gerade notwendige Folge schlechter Ernährung ist, ebensowenig wie üppige Sporenbildung stets eine solche des Gegenteils ist. Ohne weiteren Spekulationen zu folgen, verweise ich kurz auf die in größerer Zahl abgebildeten derartigen Sporangienträger (Taf. II), die von einer Reagenzglaskultur (Strichkultur auf geneigter Oberfläche) stammen.

Thatsache ist, daß bei dieser Art die Sporangienbildung wenig „fest sitzt“ und durch die Bedingungen bis zum gänzlichen Ausfalle „unterdrückt“ werden kann. Auch auf Würze ist sie schon recht dürftig.

---

1) In älteren Versuchen fand ich 4—5 Sporangien hintereinander immer wieder zu Hyphen ausgewachsen; wo dieselben normal reifen (Reis), geht ihre Zahl, wie oben bemerkt, gewöhnlich nicht über 2 hinaus.

B. Physiologisches.

Physiologisch ist die Art ebenso bemerkenswert; auf Grund des Verzuckerungs- und Gärvermögens wurde bekanntlich ihre technische Verwendung angeregt. Diese Dinge sind von Calmette bereits besprochen. Im wesentlichen darf ich mich deshalb darauf beschränken, das Verhalten gegenüber verschiedenen Substraten zu erörtern. Dabei ergaben sich einige bemerkenswerte Punkte, deren einer (Gelbfärbung auf Reis) unmittelbar zur Unterscheidung von ähnlichen Species herangezogen werden kann, übrigens auch ein hübsches Beispiel für den Einfluß von Substrat und Temperatur auf das Aussehen (Farbe) des Pilzes liefert.

Substrate. Die Art ist auf den üblichen Nährböden leicht zu kultivieren, dabei sind flüssige im ganzen weniger geeignet als feste, allerdings macht Malzauszug bezw. Bierwürze hier eine Ausnahme, neben gedämpftem Reis hat sie als das günstigste Substrat zu gelten.

Auf festen Substraten (Nähragar, -Gelatine, Stärkekleister, gedämpfter Reis) bildet er zarte, meist dicht anliegende, graue oder gelbliche, fädige Beläge, die selten nennenswert in den Luftraum emporwachsen, merkliche Luftmycelien also nicht erzeugen; auch in günstigen Fällen (Reis) geht die Vegetation nicht über ca. 2 mm über die Substratoberfläche hinaus (Unterschied gegen eine ganze Zahl anderer Mucorineen). In das Substrat selbst dringen die Hyphen stets ergiebig ein.

Flüssige Substrate lassen zunächst und vorwiegend nur submerse Mycelien zur Entwickelung kommen, die in hellen, flockigen Massen Boden, mittleres oder oberes Niveau anfüllen. Nur in bestimmten Fällen kommt es da zu einer wirklichen Deckenbildung (Würze), in anderen erheben sich bloß vereinzelte Hyphen als lockerer Rasen sparsam und niedrig über das Niveau (Maltose). Der Einfluß des Substratcharakters ist hier sehr bemerkenswert. Bessere Nährfähigkeit und schnellerer Umsatz hat nachweislich ein direktes Emporsteigen an die Oberfläche zur Folge. Die submerse Vegetation ist, wennschon voluminös, doch quantitativ stets wenig ergiebig, aber auch die Decken sind zart und locker, also arm an Substanz; Luftmycelbildung fehlt auch da, nie erhebt sich der Rasen selbst in günstigen Fällen über wenige Millimeter über das Flüssigkeitsniveau.

Kultivierbar ist der Pilz in Lösungen von Dextrose, Lävulose, Galaktose, Rohrzucker, Milchzucker, Maltose, Inulin mit Pepton oder anorganischem Stickstoff (Ammonnitrat), es werden also die genannten Zuckerarten, wenn auch nicht alle ganz gleich gut, von ihm verarbeitet. Bei gewöhnlicher Temperatur ist das durchweg ungemein träge (15—20°), geht im Brütschranke (40°) aber merklich schneller, dabei kommt es jedoch fast durchweg nur zu submerser Entwickelung und selten gelangen Hyphen über das Niveau hinaus. Die Fadenmassen flottieren dabei am Boden, in den mittleren oder höheren Schichten der Flüssigkeit, letzteres zumal im Brütschranke und bei den etwas besser nährenden Zuckern (Maltose).

Demgegenüber erhält man aber stets in Malzauszug oder Würze unter schnellem Emporsteigen der Mycelien alsbald helle, fädige Decken, offenbar ist dies Substrat also auf Grund seiner besonderen Zusammensetzung merklich günstiger, und dafür kommt nicht bloß der Gehalt an Maltose in Frage.

Anlaß zum näheren Verfolg dieser Punkte ergab das ganz verschiedene Aussehen der bei Zimmertemperatur angestellten Kulturen in Dextroselösung und Malzauszug; in ersterer erschienen stets nur submerse, ungemein träge wachsende Flockenbildungen (Taf. I, Fig. 8), während in Würze die gleichfalls aus der Gemmenaussaat hervorgehenden Mycelien binnen kurzem zur Deckenbildung emporstiegen (Taf. I, Fig. 7). Das veranlaßte mich zur Prüfung von Maltose- und weiterhin von Dextroselösungen (stets mit Pepton und Mineralsalzen) bei 40°, beides mit ganz anderem Resultate als bei Würze; immerhin findet aber doch bei dieser Temperatur in allen Lösungen der verschiedenen Zuckerarten ein schnelleres Wachstum statt, auffällig bleibt aber die (auf Würze so leicht eintretende) ausbleibende Deckenbildung. Rohrzucker und Milchzucker sind, nach dem Augenscheine gemessen (geringerer Umfang der submersen Mycelien) etwas minder günstig, dazwischen stehen Galaktose und Lävulose.

Wirkungen.

Gelatineverflüssigung findet außerordentlich langsam (erst nach Wochen und Monaten) statt, wobei nur ein Teil der oberflächlichen Schichten dickflüssig wird. Der Pilz überwächst die schräge Oberfläche der erstarrten Gelatine als fädiger Belag vollständig, eine Wirkung beobachtet man aber in den ersten Wochen überhaupt nicht. Praktisch darf das Verflüssigungsvermögen (bei 15° C) also fast als Null gelten — bei Vergleichen trat Verflüssigung mit Gelatine gleicher Bereitung bei Mucor piriformis Fischer nach einigen Tagen deutlich, bei Rhizopus träge, bei Mucor javanicus sehr träge gleichfalls erst nach längerer Zeit ein, während Bacterium prodigiosum z. B. schon nach 2 Wochen fast die ganze Masse der Gelatine dünnflüssig gemacht hatte, der Anfang hier aber schon nach 3 Tagen sehr deutlich war. Ueberall wurde 10-proz. Gelatine mit Zuckerzusatz (und Nährsalzen) verwendet; übrigens ist ihre Zusammensetzung für den zeitlichen Eintritt der Verflüssigung nicht ganz gleichgiltig, offenbar infolge kräftigerer Vegetation tritt sie bei Zusatz besonderer für die betreffende Art besserer Nährstoffe schneller ein; ebenso wenn ihre Konzentration auf nur 5 Proz. gestellt wird. Angabe der Zusammensetzung sollte also nie fehlen; auch der Termin bis zum Eintritt der Wirkung wäre zu beachten, denn schließlich (nach Monaten) scheinen die meisten Organismen mehr oder minder verflüssigend zu wirken. Ebenso wesentlich ist die Temperatur. — Verfärbung der Gelatine findet bei M. Rouxii nicht statt.

Gasentbindung. Deutliche Gärwirkung unter Gasblasenauftreten habe ich nur bei den Kulturen in Malzauszug (ungehopfte Würze) beobachtet, wo sie sowohl bei 15° wie bei 40° C sehr lebhaft ist und große Blasen sich unter der Decke ansammeln (cf. Abbild.). Die Prüfung der einzelnen Zuckerarten ergab da un-

erwarteterweise durchweg negative Resultate, selbst im Brütschranke verlief das Wachstum in Maltose, Dextrose, Lävulose, Rohrzucker, Milchzucker ohne Gasentbindung, woraus immerhin der verhältnismäßig wenig rege Umsatz dieser Zucker unter solchen Verhältnissen folgt. Die leichte Zersetzbarkeit von Würze ist also nicht ohne weiteres mit dem Maltosegehalte zu verknüpfen, da kommt noch Anderes mit in Frage. Abänderung der Bedingungen wird das zweifellos auch für mehrere der reinen Zuckerarten (Maltose, Dextrose, Lävulose, Galaktose) herbeiführen und die Sache bedarf näheren Verfolges [1]).

Alkoholbildung konnte übrigens in allen genannten Fällen konstatiert werden (Jodoformreaktion).

Säurebildung. Die Ansäuerung der Kulturen in Zuckerlösungen ist meist sehr deutlich; daß da eine freie organische Säure vorliegt, stellt man unschwer durch Kreidezusatz fest. Bereits ein Tropfen der Nährlösung genügt z. B., um mikroskopisch unter Deckglas den Nachweis von Gasentbindung aus Kreidepartikelchen zu führen. Ueber die Art der Säure kann ich aber Sicheres noch nicht angeben, Calmette hielt sie für Oxalsäure, Eijkman spricht von Milchsäure, ohne dafür Beweise zu bringen. Lebhaft ist die Ansammlung derselben besonders auch in Dextrosekulturen (15° C), hier scheint sie nicht allein die Entwickelung bald zu hemmen, sondern Mycel samt Gemmen nach wenigen Monaten selbst völlig abzutöten; wiederholt waren Aussaaten von solchen submersen Flocken (dagegen nicht von weit älteren Agarkulturen) ganz ergebnislos, die Gemmen waren tot. Das spricht für Oxalsäure, ich komme aber demnächst darauf zurück.

Stärkeverzuckerung. Das diastatische Vermögen des Pilzes hat Calmette bereits näher verfolgt, ich habe mich darauf beschränkt, nur das Wachstum auf gedämpftem Reis zu verfolgen, wobei derselbe nicht merklich verändert wird, also unverflüssigt bleibt. Verwandte Arten (Rhizopus) wirken hier erheblich stärker. Neben Diastase soll auch Invertin gebildet werden (l. c.). Durch Fehling'sche Lösung ist reduzierender Zucker übrigens leicht nachzuweisen, seiner Ansammlung wirkt aber der Wiederverbrauch seitens des Pilzes entgegen. Beachtenswert ist die Bildung angenehm esterartig riechender Stoffe auf Reis, wie ich früher Aehnliches schon für M. piriformis Fisch. angab [2]). Der Geruch solcher Kulturen ist ebenso stark wie angenehm.

Färbungen. Die in Zuckerlösungen vegetierenden Mycelien sind immer grauweiß, seltener schwach gelblich. Anders ist es bei Kultur auf festem Substrate, auffällig zumal auf Reis. Hier färben

1) Die Art der sonstigen Nährstoffe wird da entscheidend sein. Ausdrücklich sei aber bemerkt, daß die gleiche Nährlösung (Pepton, Ammonnitrat, Kaliumphosphat, Magnesiumsulfat in dem stets von mir angewandten Verhältnisse in Summa 0,4 Proz.) bei anderen Arten Gärung wie Deckenbildung zuließ (M. javanicus), ebenso auf Hefen wie Bakterien nicht gärungsverhindernd wirkt. Es bliebe also nur Annahme einer besonderen Empfindlichkeit unseres Mucors. Obige Zucker immer in ca. 10-proz. Lösung.

2) Ueber einige weitere freie Citronensäure bildenden Pilze. (Chemiker-Zeitung. 1897. No. 98.)

dieselben sich alsbald schön orangelb, so daß also die Reiskörner in dem Umfange, wie sie von den Hyphen um- und durchwachsen werden, gelb werden. Reiskulturen sind also genau so weit gefärbt, als das Mycel sich ausbreitete, oberflächlich entwickelt sich, von der Impfstelle ausgehend, ein schön gelboranger Fleck (so in Erlenmeyer-Kolben, cf. Taf. I, Fig. 9), der allmählich den ganzen Reis überwächst, ebenso aber in die Tiefe dringt. Oft ist oberflächliches Mycel mit bloßem Auge gar nicht wahrnehmbar, die Ausbreitung des Pilzes wird dann direkt durch die der farbigen Reiskörner gemessen.

Ursache der Färbung sind feine, leuchtend goldgelbe Tröpfchen im Zellinhalte (wohl Oel), bisweilen sieht man auch ganze Partieen des Plasmas damit getränkt. Der Reis selbst ist ungefärbt.

Diese Färbung auf gedämpftem Reis ist für die Art ganz charakteristisch und unmittelbar zur Unterscheidung von ähnlichen Species mit heranzuziehen. Bei anderen zum Vergleich geprüften (M. javanicus, M. piriformis, Rhizopus Oryzae, Chlamydomucor Oryzae, Rhizopus nigricans nebst 2 weiteren noch unbestimmten Arten) habe ich sie nicht beobachtet. Sie entsteht bei M. Rouxii aber nur bei Zimmertemperatur, fehlt also im Brütschranke (40° C), wo das Mycel die gewöhnliche grauweiße Farbe hat und somit das gelbe Pigment ausbleibt. Vorhanden, wenn auch minder deutlich, ist dieser Unterschied auch bei den auf Würze sich entwickelnden Decken.

Temperatureinfluß.

Die Art reagiert ungemein lebhaft auf Wärmeunterschiede. Im allgemeinen verlangt sie höhere Temperatur, um rasch und ergiebig zur Entwickelung zu kommen (30—40°), wächst dagegen bei 15—20° meist so träge, daß hier zur Erzielung ähnlicher Vegetationen ebensoviele Wochen vergehen als bei 40° Tage. Eine Ausnahme macht eigentlich nur Bierwürze als Substrat, in der auch bei Zimmertemperatur schon nach einigen Tagen lebhafte Entwickelung unter Gasentbindung im Gange ist; selbst Reis ist da nicht so gut. Dextrosenährlösungen mit Mineralsalzen (ebenso die der anderen Zucker) geben auch nach vielen Wochen nur dürftige submerse Flocken, werden überhaupt sehr träge zersetzt, so daß in solchen Kulturen auch nach Monaten noch der meiste Zucker unverändert ist. Sichtbare Aenderung tritt da erst mit Erhöhung der Temperatur ein: die am Boden vegetierenden Mycelien heben sich in Kürze empor und beginnen unterhalb der Oberfläche sich lebhaft zu vergrößern und die ganze Flüssigkeit mehr oder minder zu durchwachsen. Würzekulturen kann man schon durch leichte Anwärmung (Sonnenwirkung) zu einer vermehrten Gasausscheidung unter Emporsteigen der Mycelien bringen, die hier im Brütschranke übrigens schon 2 Tage nach Aussaat beginnen kann.

In Zuckerlösungen mag das Optimum bei ca. 40° C liegen, auf Reis aber anscheinend etwas niedriger (ca. 35°), wenigstens verlief hier die Verpilzung einer bestimmten Menge gedämpften Reises in ca. 8 Tagen, während bei 37° da 10 Tage und bei 39° rund 11 Tage erforderlich waren (Reagenzglaskulturen mit je 10 ccm Reismasse).

Rhizopus brauchte unter denselben Umständen allerdings nur $^1/_3$—$^1/_2$ der Zeit, so daß unser Mucor immerhin nicht zu den vegetationskräftigsten Arten zu zählen ist.

Auf die Sporangiumbildung ist vermehrte Wärmezufuhr ohne Wirkung, im Gegenteil ist sie selbst auf Reis da mehrfach noch dürftiger und in mehreren Fällen blieb das die Reismasse durchsetzende und überziehende grau-gelbliche Mycel total steril.

Daß die Gelbfärbung im Brütschranke ausbleibt, wurde bereits erwähnt; ebenso daß hier Gasentbindung bei Kultur in den obengenannten Zuckerarten nicht beobachtet wurde. Würze nimmt in letzterer Beziehung eine Art Sonderstellung ein, sie wird bei 15° sowohl wie bei 40° stets leicht unter lebhafter Gasentbindung verarbeitet, giebt dementsprechend auch ganz andere Vegetationen. Die Art ihrer Zusammensetzung sagt dem Pilze besonders zu (Amidstickstoff?).

C. Diagnose.

Mucor Rouxii (Calm.) Aut.

Die Art ist von allen bislang beschriebenen leicht kenntlich verschieden, also neu[1]).

Sporangienträger klein (ca. 1 mm×7—14 μ), steif, aufrecht oder verbogen, verzweigt (selten einfach), meist nur 2 Sporangien (selten 3) gleicher Art tragend, diese kurz oder länger gestielt, aufrecht oder nickend, nicht selten mit Mißbildungen (fehlschlagend). Rasen locker, wenig hervortretend, grau, hell-gelblich bis hell-bräunlich (Agar), auf Reis orangegelb (20° C). Sporangien hell bis gelblich, kugelig, oft in Längsrichtung schwach verkürzt (meist 50 μ Durchmesser), glatt, durchscheinend, Sporangienwand farblos, durchsichtig, beim Zergehen ansehnliche Reste als Kragen zurücklassend (zerfließend oder zerbrechend). Columella nicht aufsitzend, kugelig, schwach abgeplattet (20×23—28×32 μ), glatt, farblos, Sporen meist gleichmäßig, länglich (5×2,8 μ), selten rundlich, farblos, glatt, glänzend, mit ungleich verteiltem, auch partiell kontrahiertem Inhalte. Gemmen stets reichlich, kleiner bis sehr groß, unregelmäßig, tonnenförmig oder streng kugelig (12—100 μ Durchmesser) gelblich, hell-bräunlich oder seltener farblos, mit meist starker (bis 7 μ), glatter, farbloser Wand. Zygosporen und Kugelhefe fehlen.

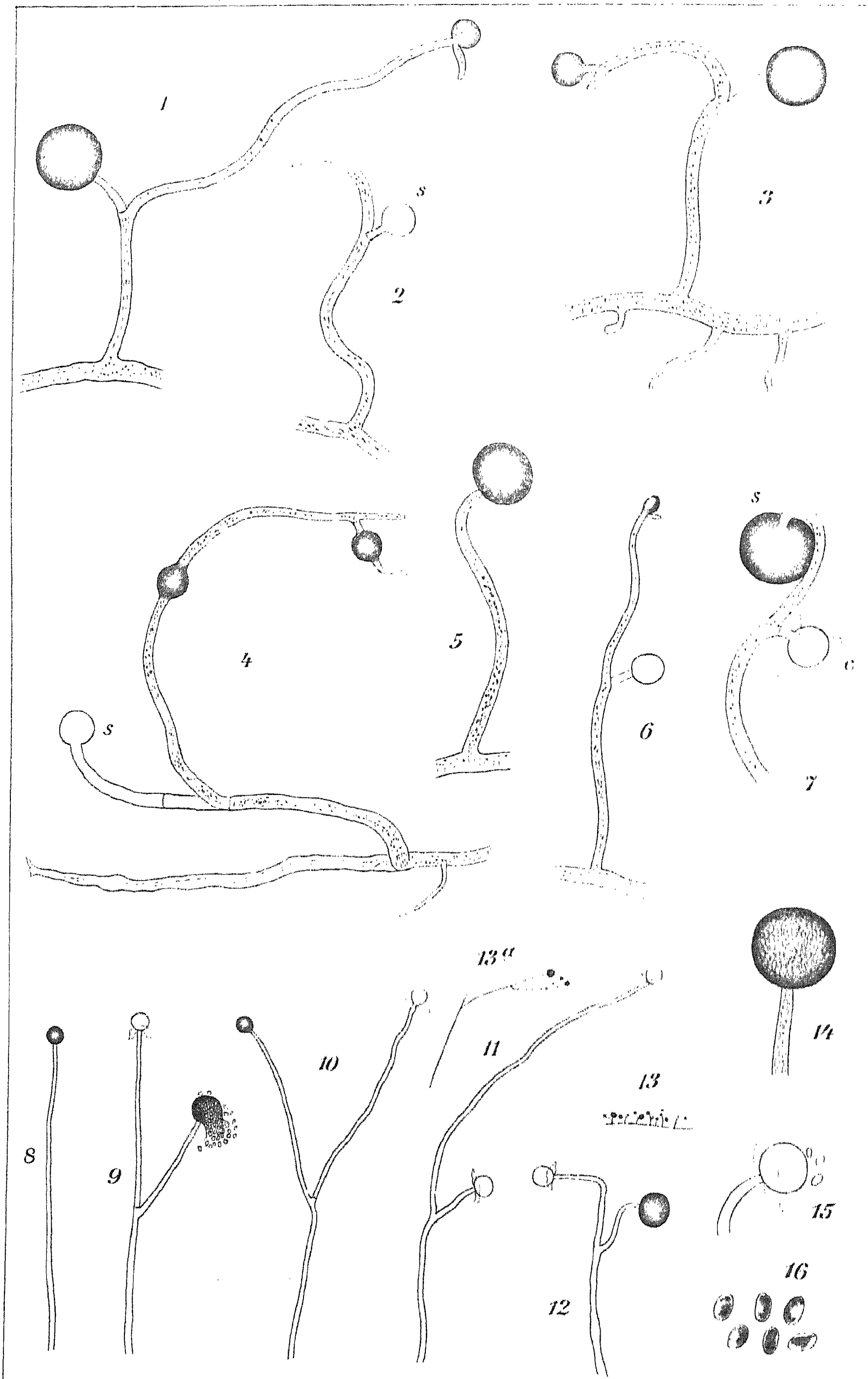
Vorkommen: In Reismehlkuchen (der sogenannten „Chinesischen Hefe").

Wächst langsam (15°) auf stärke-, zucker- oder eiweißhaltigen Substraten, schneller bei 30—40° (Optimum), verzuckert Stärke, verflüssigt Gelatine bei 15° C nicht bez. erst nach langer Zeit, färbt gedämpften Reis orangegelb, entwickelt in Bierwürze Decke und Gasblasen (sowohl bei 15° wie im Brütschranke), nicht dagegen

---

1) Aus den Angaben Calmette's ging das nicht ohne weiteres hervor.

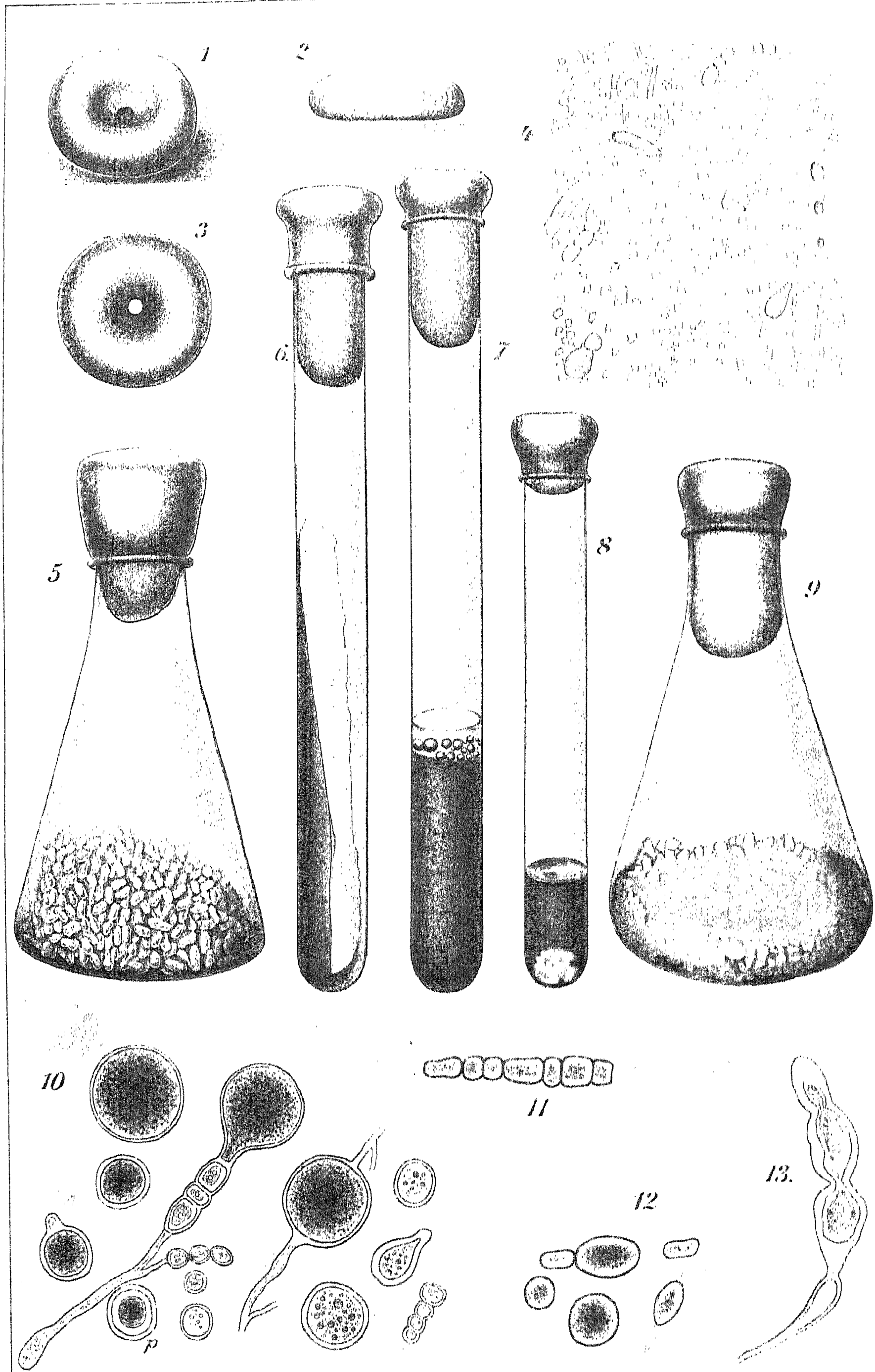
Auf die genauere Stellung innerhalb der Gattung möchte ich erst weiterhin nach Besprechung der übrigen Arten eingehen; in einigen Punkten erinnert die Art an die gleichfalls kleinwüchsigen M. pusillus Lindt, M. brevipes Riess. u. a. zeigt im einzelnen aber sofort scharfe Unterschiede (cf. Fischer l. c.).



C. Wehmer gez.

Verlag von Gustav Fischer in Jena.

Lithographie v. [illegible] Jena


1
2
3
4
5
6.
7
8
9
10
11
12
13.
p

in Dextrose, Lävulose, Galaktose, Milchzucker, Malzzucker, Rohrzucker, in denen er aber kümmerlich bei 15°, schneller bei 40° gedeiht (meist ohne Deckenbildung) und Säurebildung hervorruft. Natur der Säure bislang kritisch.

10. März 1900.

Tafelerklärung.

Tafel I.

Fig. 1—3: Chinesische „Hefe" in verschiedener Ansicht (nat. Gr.).

Fig. 4: Präparat aus derselben (nach Abschwemmen des größten Teils der Stärke) mit Pilzelementen.

Fig. 5—9: Kulturen von Mucor Rouxii (Zimmertemperatur) auf gedämpftem Reis (Fig. 5 u. 9), Agar (Fig. 6), Würze (Fig. 7), Zuckerlösung (Fig. 8) (Dextrose, gleiches Aussehen bei Lävulose, Rohrzucker, Milchzucker, Maltose, Galaktose). Charakteristisch in Fig. 7: Decke mit Gasblasen unterhalb, in Fig. 8: nur submerse Vegetation. Fig. 5—6: Niedrige, lockere Rasen. Fig. 9: Gelbfärbung des Reis.

Fig. 10—13: Gemmen aus Zuckerlösung (Dextrose, bei *p* ein plasmolysiertes Exemplar, alte Kultur Fig. 10 u. 13) von Zuckeragar (Fig. 11) und Reis (Fig. 12).

Tafel II.

Fig. 1—6: Sporangienträger von Zuckeragar mit meist fehlgeschlagenen Sporangien, die in Fig. 1 u. 4 direkt wieder auskeimen. Fig. 2 u. 4 bei *s* = sterile, leere Sporangien, in Fig. 3 u. 6: Auskeimen kurz unterhalb des Sporangiums. (Junge Kultur, ca. 7-tägig.)

Fig. 7: Sporangienträger normal ausgebildet, *c* = Columella mit ansehnlichem Hautrest[1]).

Fig. 8—12: Sporangienträger mit normalen Sporangien und Columellen (6-tägige Reiskultur).

Fig. 13: Dgl. in ungef. nat. Gr. (Agarkultur).

Fig. 13 a: Dgl. ca. 10-fach vergr. von einer Kultur in Maltosenährlösung mit ganz lockerem Rasen auf der Oberfläche.

Fig. 14: Sporangium (Reiskultur, 6-tägig).

Fig. 15: Columella (von Reiskultur).

Fig. 16: Sporen (dgl.).

Die genauen Vergrößerungen ergeben sich aus den Zahlenangaben des Textes; stärker vergrößert ist nur Fig. 16 der Tafel II sowie Fig. 4, 10—13 der Tafel I.

Beiträge zur Kenntnis der Nitrifikation.

Von **W. Migula** in Karlsruhe.

1. Nitrifikation im Waldboden.

In einer Arbeit in den Berichten der deutschen botanischen Gesellschaft (Bd. VI. 1888. p. 217) versucht Ebermayer die Erscheinung zu erklären, daß die Waldbäume keine Nitrate enthalten. Er findet dabei, daß im Waldboden keine Nitrite und Nitrate enthalten sind, oder doch nur in äußerst geringen Mengen. Ebensowenig konnte er im Torfboden und im Moorwasser Salpetersäure nachweisen. Dieses auf über 100 Untersuchungen gestützte Resultat führt ihn zu der weiteren Folgerung, daß „die stickstoffarmen

1) Direkt von mit Zuckerlösung angesetzter „Hefe"; hinsichtlich der Zugehörigkeit zu M. Rouxii scheint er mir doch — was ausdrücklich bemerkt sein mag — etwas kritisch.

vegetabilischen Stoffe im Wald- und Moorboden zur Nitrifikation ungeeignet sind."

Sehen wir von den später noch näher zu beleuchtenden Angaben über das Nichtvorkommen von Salpetersäure in den Waldbäumen zunächst ab und richten unser Augenmerk nur auf die im Waldboden gegebenen Existenzbedingungen der Nitrobakterien, wie sie uns durch Winogradsky und seine Schule bekannt geworden sind. Zweifellos sind die Verhältnisse für die Nitrobakterien hier weniger günstig als in Ackererde, langsamere Zersetzung der organischen Substanz, langsamere Durchlüftung des Bodens, geringerer Gehalt an Ammoniakverbindungen machen es von vornherein wahrscheinlich, daß die Salpeterbildung im Waldboden weniger intensiv und weniger ergiebig ist. Aber andererseits ist es wieder unwahrscheinlich, daß die Salpeterbildung ganz unterbleiben sollte, da doch gewiß Zeitpunkte eintreten, zu welchen die lösliche und also für die Nitrobakterien in Frage kommende organische Substanz durch Fäulnisbakterien soweit zersetzt ist, daß sie der Entwickelung von Nitritbildnern keine Hindernisse mehr entgegensetzt. Ebenso kommen stets, wenn auch geringe Mengen stickstoffhaltiger organischer Substanz mit dem abfallenden Laub in den Waldboden, so daß nach Zersetzung derselben durch Fäulnisbakterien jedenfalls auch Ammoniaksalze in einer Quantität vorhanden sind, die das Leben den Nitrobakterien ermöglichen. Die geringere Durchlüftung des Waldbodens spielt jedenfalls eine geringere Rolle, da die zur Existenz der Nitrobakterien nötige Menge Sauerstoff, sobald erst die Fäulnisprozesse abgeschlossen sind, sicher überall im Boden vorhanden ist.

Ich habe deshalb versucht, den Nachweis zu erbringen, daß auch im Waldboden Nitrifikation stattfindet und zwar in der Weise, daß ich aus verschiedenen Wäldern, teils der Rheinebene, teils des Schwarzwaldes Erdproben entnommen und dann 7 Kulturen von Nitrit- und Nitratbildnern angelegt habe. Zum Vergleich wurden auch einige Proben von Ackererde, Komposterde, Moorwiesenerde angelegt. Ueber die Nitrifikation im Moorboden und Torf soll in einem späteren Abschnitt berichtet werden, hier mag zunächst nur die Nitrifikation im Waldboden zur Besprechung kommen.

Die Kultur der Nitrit- und Nitratbildner erfolgte nach den bekannten von Winogradsky angegebenen Methoden in der Form, wie sie von Omelianski[1]) empfohlen wird. Die Kulturen wurden in flachen Erlenmeyer'schen Kolben bei Temperaturen von 30 bis 35° C gehalten und im Zwischenraum von wenigen Tagen untersucht. Der Nachweis der Ueberführung von schwefelsaurem Ammoniak in Nitrite und dieser in Nitrate wurde nach den üblichen Methoden durch Diphenylamin + Schwefelsäure, Kadmiumjodidstärke + Schwefelsäure, und Neßler'sches Reagens erbracht. Es wurden gleichzeitig bei jedem Versuche Kulturen für Nitrit- und Nitratbildner angelegt.

Versuch 1. Komposterde aus dem botanischen Garten. Alter

---

1) Omeliansky, Ueber die Isolierung der Nitrifikationsmikroben aus dem Erdboden. (Centralbl. f. Bakt. etc. II. Abt. Bd. V. 1899. No. 15.)

Komposthaufen. Beginn des Versuches 11. Januar. Zum Ansetzen wurden, wie auch bei anderen Versuchen, je $^1/_2$ g Erde verwendet.

Am 14. war bereits eine geringe Nitritbildung nachzuweisen, am 17. war die Reaktion kräftig, am 22. war alles Ammoniak verschwunden und in Nitrit übergeführt. Die Umwandlung der Nitrite in Nitrate ging ebenso rasch vor sich, in 11 Tagen, am 22. Januar waren alle Nitrite verschwunden und in Nitrate übergeführt.

Versuch 2. Walderde aus einer etwa 14jährigen dichtgeschlossenen Kultur von Weymouthskiefern des Hardtwaldes bei Karlsruhe. Die dichte Nadelschicht wurde weggekratzt und etwa 5 cm unter der Oberfläche die Probe entnommen. Beginn des Versuches am 8. Januar 1900.

Am 17. Januar zeigte sich die erste minimale Spur von Nitritbildung, am 22. Januar war sie kräftig und am 11. Februar war alles Ammoniumsulfat in Nitrite übergeführt. Die Nitratbildung ging wesentlich langsamer vor sich und erst nach 8 Wochen, am 3. März waren alle Nitrite verschwunden. Beide Kulturen wurden nun in neue Nahrlösungen übertragen, in der Erwartung, daß jetzt eine raschere Nitrifikation eintreten würde. Diese Erwartung ging jedoch nicht ganz in Erfüllung. Die Nitritbildung ging allerdings wesentlich rascher von statten, aber immer noch wesentlich langsamer als bei Versuch 1. Die Abimpfung war am 11. Februar vorgenommen worden und am 3. März war alles Ammoniak verschwunden. In der Kultur für die Nitratbildner, die am 3. März angelegt wurde, war aber nach der Stärke der Reaktion auf Kadmiumjodidstärke erst am 22. März eine deutliche Abnahme der Nitrite zu merken.

Versuch 3. Walderde von derselben Stelle wie bei Versuch 2, aber aus einer Tiefe von 15 cm. Die Ergebnisse dieses Versuches sind für Nitrit- und Nitratbildner die gleichen wie bei Versuch 2, nur verzögerte sich die vollständige Umwandlung der Nitrite in Nitrate um 2 Tage.

Versuch 4. Walderde aus einem Auenwald am Rhein bei Wörth. Bestand hauptsächlich Eiche, Buche, Weißbuche, Schwarzpappel, Esche mit dichtem Unterwuchs aus Haseln. Probe entnommen am 2. Februar aus der obersten mit Blattresten durchsetzten Humusschicht.

Nitritbildung trat vom 2. Februar bis 22. März nicht ein, ebensowenig konnte eine wesentliche Abnahme der Nitrite in der Kultur für Nitratbildner festgestellt werden.

Versuch 5. An derselben Stelle und zur gleichen Zeit entnommen wie bei Versuch 4, aber etwa 5 cm tiefer. Die Schicht war zwar humusreich, aber nicht mehr mit unzersetzten Blattresten durchsetzt.

Am 25. Februar konnte die erste Spur von Nitritbildung wahrgenommen werden, am 2. März war die Reaktion auf Nitrite deutlich, aber selbst bis zum 22. März war noch nicht alles Ammon umgesetzt. Die Nitratbildung war wesentlich langsamer, deutliche Abnahme der Nitrite ließ sich erst am 22. März erkennen.

Versuch 6. An derselben Stelle und zu gleicher Zeit entnommen wie bei Versuch 4, aber 15 cm tief.

Die erste Spur einer Nitritbildung konnte bei dieser Probe schon

am 16. Februar nachgewiesen werden, am 25. Februar war die Reaktion sehr deutlich, am 10. März war alles Ammoniumsulfat verschwunden. Die Nitratbildung ging auch hier wesentlich langsamer vor sich; erst am 10. März ließ sich eine deutliche Abnahme der Nitrite erkennen, aber auch am 22. März waren noch Nitrite vorhanden.

Versuch 7. An derselben Stelle und zu derselben Zeit entnommen, wie bei Versuch 4, aber 25 cm tief.

Die Ergebnisse dieses Versuches stimmen mit denen des Versuches 5 annähernd überein. Die erste Spur von Nitritbildung ließ sich erst am 20. Februar nachweisen, am 22. März war alles Ammoniumsulfat verschwunden. Eine deutliche Abnahme der Nitrite in der Kultur für Nitratbildner konnte jedoch erst am 22. März nachgewiesen werden.

Versuch 8. Walderde aus einem Bergwald (Rittnertwald bei Durlach). Bestand: Rotbuchen und Weißtannen, ohne Unterwuchs. Probe aus der oberen Humusschicht mit zum Teil noch unzersetzten Blättern. Beginn des Versuches am 9. Februar.

Bis zum 22. März war eine Nitrit- resp. Nitratbildung nicht nachzuweisen.

Versuch 9. Walderde von derselben Stelle und zu derselben Zeit entnommen, wie in Versuch 8, aber 10 cm tief.

Am 26. Februar war bereits Nitritbildung eingetreten, am 2. März war sie sehr deutlich, am 20. März war alles Ammoniumsulfat verschwunden. Nitratbildung trat hier im Verhältnis zu den anderen Versuchen etwas früher ein, am 5. März war eine deutliche Abnahme der Nitrite zu bemerken, am 22. März waren nur noch Spuren vorhanden.

Versuch 10. Walderde von derselben Stelle und zu derselben Zeit entnommen wie in Versuch 8, aber 25 cm tief.

Die erste Nitritbildung konnte hier erst am 5. März nachgewiesen werden, auch am 22. März waren immer noch, wenn auch geringe Spuren von Nitriten nachweisbar. Eine merkbare Nitratbildung trat bis zum 22. März nicht ein.

Versuch 11. Walderde aus dem Schwarzwald, entnommen aus einem Bestand von Tannen zwischen Baden-Baden und der Yburg (etwa 400 m Höhe). Entnommen aus der obersten Schicht, zum Teil noch in Zersetzung begriffene Tannennadeln enthaltend. Beginn am 3. Februar.

Erst am 3. März ließ sich eine Spur von Nitritbildung nachweisen, dieselbe nahm aber bis zum 22. März nur sehr wenig zu. Nitratbildung ließ sich bis zu dieser Zeit nicht erkennen.

Versuch 12. Walderde von derselben Stelle und zu derselben Zeit entnommen wie bei Versuch 11, aber 10 cm tief.

Am 17. Februar war deutlich Nitritreaktion zu erkennen, am 25. war sie sehr stark, am 16. März war alles Ammoniumsulfat verschwunden. Auch die Nitratbildung ging verhältnismäßig gut von statten und am 22. März waren nur noch geringe Spuren von Nitriten in der Kultur für Nitratbildner zu erkennen.

Aus den vorstehenden Versuchen geht zunächst hervor, daß in

den obersten Schichten des Waldbodens, die noch mit in Zersetzung begriffenem Laub durchsetzt sind, eine Nitrifikation nicht stattfindet oder doch wenigstens zu bestimmten Jahreszeiten unterbleibt (Versuch 4, 8 und zum Teil 11). Jedenfalls ließen sich aus diesen Proben Nitrat- und Nitritbildner nicht züchten; nur in einem Falle (11) kann es in den Kulturen zu einer sehr spärlichen Nitritbildung, die durchaus keine Fortschritte machen wollte. Dabei soll die Möglichkeit, daß zu anderen Jahreszeiten in den obersten Schichten Nitrifikation stattfindet, durchaus nicht in Abrede gestellt werden. Zu Ende des Winters und zu Beginn des Frühjahrs ist die Hauptmasse des abgefallenen Herbstlaubes noch nicht zersetzt, dies ist vielmehr erst zu Ende des Frühjahrs und im Sommer der Fall. Dann ist infolge der größeren Wärme eine wesentlich raschere Zersetzung der an sich schwer vergärbaren Substanz des Laubes möglich geworden, die löslichen organischen Substanzen, die nach Omelianski[1]) schon in verhältnismäßig sehr geringer Menge einen schädigenden Einfluß auf die Entwickelung der Nitrobakterien ausüben, sind rascher verschwunden, die Lebensbedingungen für diese Organismen sind also günstiger geworden. Bei der scheinbar allgemeinen Verbreitung der Nitrobakterien ist es aber sicher anzunehmen, daß sie auch in den oberen Schichten sofort ihre Thätigkeit entfalten werden, wenn die Zersetzungsprozesse der Fäulnisbakterien aufgehört und die Bedingungen für die Nitrifikation geschaffen haben. Zwei andere Proben, die mir von Herrn Professor Dr. Behrens in liebenswürdiger Weise zur Verfügung gestellt wurden und aus der obersten Humusschicht des Schwarzwaldes stammten, zeigten ebenfalls nach Wochen keine Spur von Nitrit- und Nitratbildung in den Kulturen.

Es läßt sich ferner aus diesen Versuchen mit Sicherheit annehmen, daß auch im Waldboden allgemein Nitrifikation stattfindet, wenn auch allerdings nicht mit derselben Intensität wie im Ackerboden. Daß in den obersten Humusschichten die Nitrifikation fehlen würde, war freilich nach den Eigenschaften der Nitrobakterien von vornherein anzunehmen. Es bilden sich deshalb Zonen verschiedener Intensität der Nitrifikation, die im Waldboden anders liegen als etwa im Ackerboden. Am reichsten vertreten sind die Nitrobakterien im allgemeinen bis 10—20 cm Bodentiefe, nach oben und unten nehmen sie an Zahl wieder ab. Denn der Schluß ist jedenfalls berechtigt, aus dem rascheren oder langsameren Eintritt und Verlauf der Nitrit- und Nitratbildung in den Kulturen auf eine größere oder geringere Zahl von Individuen der Nitrobakterien in den betreffenden Schichten zu schließen, da jedesmal gleiche Mengen Erdboden zur Kultur verwendet wurden. Mit der größeren oder geringeren Zahl von Nitrobakterien ist aber dann auch naturgemäß eine intensivere oder langsamere Nitrifikation verbunden, wenn auch vielleicht in Einzelfällen Zahl und Arbeitsleistung nicht übereinstimmen.

---

1) Winogradsky und Omeliansky, Ueber den Einfluß der organischen Substanz auf die Arbeit der nitrifizierenden Mikrobien. (Centralbl. f. Bakt. II. Abt. Bd. V. No. 10.)

Ein merkbarer Unterschied hinsichtlich des Vorkommens der Nitrobakterien in den durch Bodenbeschaffenheit, Höhenlage, Feuchtigkeit und Pflanzenbestand so außerordentlich verschiedenen Wäldern, deren Boden zu der Untersuchung benutzt wurde, kann nicht festgestellt werden. Sie sind überall vorhanden, in dem einen Boden mögen sie wohl eine tiefere, in dem anderen eine flachere Zone bewohnen, aber nachzuweisen sind sie, abgesehen von den obersten Schichten, stets.

Auffallend ist es dagegen, daß die Nitritbildung in den Kulturen mit Waldboden verhältnismäßig weit rascher vor sich geht, als die Nitratbildung, während in dem zur Kontrolle angesetzten Versuch mit Komposterde und in einem anderen, hier nicht weiter erwähnten mit Ackererde beide Prozesse annähernd gleich rasch verliefen. Da nach Omeliansky die Nitritbildner empfindlicher gegen organische Substanz sind als die Nitratbildner, so kann in dem Vorhandensein von noch unzersetzter organischer Substanz die Ursache dieses eigentümlichen Verhaltens nicht zu suchen sein. Es ist vielmehr anzunehmen, daß der Nitratbildner zu der Zeit, als die Proben zur Untersuchung kamen, sich noch nicht in dem Maße wie der Nitritbildner entwickeln konnte, weil ihm der letztere noch nicht genügend vorgearbeitet hatte. Wahrscheinlich war die Nitritbildung in den Monaten Januar und Februar überhaupt erst gering und infolgedessen waren für den Nitratbildner die Lebensbedingungen noch nicht in ausreichendem Maße gegeben.

Es ist überhaupt wahrscheinlich, daß sich im Waldboden die verschiedenen Prozesse mit viel größerer Regelmäßigkeit abspielen als im Ackerboden und auch mehr an bestimmte Zeiten gebunden sind. Die Zersetzung der organischen Substanz der Blätter geht im Walde sehr langsam vor sich und deshalb wird die Thätigkeit des Nitritbildners voraussichtlich erst verhältnismäßig spät zur vollen Entwickelung kommen. Nach den Arbeiten von Winogradsky und Omeliansky kann aber die Nitratbildung erst dann einsetzen, wenn alle Ammoniaksalze verschwunden sind, weil einmal diese Verbindungen selbst in minimalen Mengen die Entwickelung des Nitratbildners hemmen und weil zweitens erst hinreichende Mengen Nitrite für die Nitratbildung vorhanden sein müssen.

Es ist demnach anzunehmen, daß bei der langsamen Zersetzung der organischen Substanz Nitrit- und Nitratbildung auf verhältnismäßig kurze Zeiträume beschränkt sein werden, da mit dem beginnenden Laubfall im Herbst die Thätigkeit der Fäulnisbakterien wieder beginnt und die der Nitrobakterien aufhört. Es werden sich demgemäß auch nur während verhältnismäßig kurzer Zeit Nitrate im Waldboden finden und nur während dieser Zeit wird den Waldbäumen Gelegenheit gegeben sein, Nitrate aufzunehmen.

Nachdruck verboten.

The nodule organism of the Leguminosæ.

By R. Greig Smith in Sydney.

There has been considerable doubt among investigators as to the nature of the nodule organism of the Leguminosæ. Beijerinck and his followers consider it to be a bacterium which may assume the rod, coccus or spirillum form. Frank, Laurent and others do not consider it as a bacterium but as an organism allied to the bacteria, the hyphomycetes and the saccharomycetes.

The medium generally recommended for its culture contains sucrose and plant infusion but the author has obtained excellent growths with a faintly acid medium containing 1 % peptone, 5 % glucose and 0,5 % potassium chloride. In such a medium, the organisms develop freely. The microscopical appearance of the organism depends greatly upon the method which has been employed in preparing the film for observation. By using the customary method of fixation by heat, the organism appears, when deeply stained, as an oval or as a lengthened or branched form. With less intense staining the protoplasm appears irregular, the smaller forms generally staining in two places, while in the longer forms, the protoplasm is aggregated in several places. In some of the films which the author prepared, the smaller cells had little prominences that suggested buds. In order to observe these better, the films were air-dried and fixed by floating on 5—10 % solution of formalin, then they were carefully stained with carbol-violet and subsequently washed, air-dried and mounted in balsam.

When prepared in this way the organisms appeared as more or less oval, capsulated yeasts with vacuoles and terminal buds. That they are truly yeasts does not seem to have been demonstrated by any author and the reason for this may be ascribed to unsuitable media, fixation by heat and excessive staining. It is to the capsule that the diversity of shape of what was supposed to be the simple organism is due. When the capsule is delicate, the mature bud easily escapes from the parent membrane and moves about as a free cell. With a stronger capsule, the bud matures beside the mother cell which may produce a second bud and the three cells, being contained in one capsule, forms a Y shaped compound organism, the internal structure of which may be concealed by the capsule staining as deeply as the protoplasm. When the capsule is very tough, there are produced long simple or branching threads. If the capsule is bulky it may during the process of preparing the film, aggregate centrally or terminally when the simple or compound organism appears spindle-shaped or pestle-like. Such shapes have been described by authors as eccentricities of the organism itself. In reality they are produced by the capsule, the nature of which depends upon the medium. Glucose tends to produce thin delicate capsules while with sucrose they are tough. In consequence of this the peptone-

glucose culture is turbid and the cells are chiefly single or at most double, while the peptone-sucrose culture is clear and the organisms are collected in zoogloea masses.

The organisms have been described as partly motile and partly non-motile. When young cultures in peptone-glucose are observed in the hanging-drop, the younger cells are seen to be actively motile. In time, the motility becomes slower and ultimately ceases when the cell begins to bud. The mature bud is actively motile and, while still enclosed in the parent capsule, can be seen pulling and tugging in its endeavour to escape from the capsule, containing the motionless mother cell.

The numerous writers who have described the nodule-former have admitted their inability to stain the flagellum, by means of which the cell is endowed with its motility. The author tried the usual method of suspending an agar culture in water or normal saline and staining with various mordants but success was only obtained by using an undiluted, young peptone-glucose culture, fixing in formalin solution and staining with Coerner-Fischer flagellum stain. The cells showed, in some cases, the adhering remains of the tubular capsule and in others, an exceedingly thin, single, terminal flagellum about 2 μ long and bearing upon the distal end a tuft, like the lash at the end of a whip. The observation of the delicate filament is aided by the presence of this terminal tuft.

I think that all writers, with the exception of Macé, have been unable to prove fixation of nitrogen with pure cultures of the notule-former in artificial media. Various culture fluids, including that made according to Macé's prescription, were employed in my experiments and in no case was a gain of nitrogen obtained with the cultures.

In the nodules many bacteria and moulds are to be found but they are not constantly present. Bacillus megatherium, however, accompanied the nodule-yeast most frequently and indeed, so often was it found, that fixation experiments were tried with it in pure culture and also together with the nodule-former. No fixation of nitrogen occurred.

For details of the research, the reader is referred to the full paper with photographs published in the Proceedings of the Linnean Society of New South Wales. 1899. Part 4.

Referate.

Matruchot, L., Sur une structure particulière du protoplasma chez une Mucorinée et sur une propriété générale des pigments bactériens et fongiques. (Rev. gén. de Bot. T. XII. 1899. p. 33.)

Verf. beschäftigt sich mit der Frage nach der mikrotechnischen Verwendbarkeit der von Bakterien und Pilzen ausgeschiedenen Farb-

stoffe. Das von Bacillus violaceus und Bacterium violaceum gelieferte „Violaceïn“ sowie der von Fusarium polymorphum secernierte Farbstoff erwiesen sich als geeignet zur intravitalen Färbung des Plasmas der mit den chromogenen Organismen gemeinschaftlich kultivierten Pilze.

Die an gefärbtem Hyphenmaterial gesammelten Beobachtungen führten Verf. zu der Unterscheidung von Hyaloplasma und „Enchylema“, welch letzteres in Form von cylindrischen Strängen das Hyaloplasma durchzieht, bis sich im weiteren Verlaufe der Entwickelung das Enchylema unter Bildung ölartiger Tropfen zersetzt, das Hyaloplasma zum Saftraum sich umwandle. Küster (Halle a. S.).

Albert, R. und **Buchner, E.**, Hefepreßsaft und Fällungsmittel. (Wochenschr. f. Brauerei. 1900. No. 4. p. 49—51.)

Neuere Versuche, durch Alkoholfällung gärwirksame Substanz aus dem Hefepreßsaft zu isolieren, bestätigten die früher schon von E. Buchner gemachten Angaben. Verff. beabsichtigten festzustellen, ob sich eine derartige Fällung, ohne Verlust an Gärkraft zu erleiden, ausführen lasse und ferner, inwiefern dieselbe etwa geeignet sei, eine Trennung der Zymase von den übrigen Bestandteilen des Preßsaftes zu ermöglichen.

Bei der Ausführung der Alkoholfällung hat es sich von vornherein als zweckmäßig erwiesen, nicht mehr als 50 ccm Preßsaft auf einmal anzuwenden. Eine längere Berührung des Niederschlages mit Alkohol beeinträchtigt die Gärkraft schon empfindlich. Der Niederschlag wird sogleich im Vacuum über Schwefelsäure getrocknet. Es resultierten auf diese Weise je nach der Beschaffenheit des Preßsaftes 5—7 g einer weißen, hornartigen Masse, welche nur noch zum Teil in Wasser löslich ist. Suspendiert man den so erhaltenen Niederschlag in einer Rohrzuckerlösung, so beginnt nach kurzer Zeit eine regelmäßige Kohlensäureentwickelung. Digeriert man das Fällungsprodukt einige Zeit mit Wasser und filtriert darauf von dem unlöslichen Rückstand ab, so zeigt das klare, schwach gelb gefärbte Filtrat Rohrzucker gegenüber ebenfalls deutliche Gärwirkung.

Zur Kontrolle der Gärkraft wurden 20 ccm des frischen Saftes in der bekannten Weise geprüft, ebenso später die 20 ccm Saft entsprechende Menge der Alkoholfällung, und zwar zunächst in einer Zuckerlösung von gleicher Konzentration suspendiert.

Ein Verlust an Gärkraft tritt durch die Alkoholfällung nicht ein.

Um einwandsfreie Resultate zu erhalten, wurde bei weiteren Versuchen in der Weise verfahren, daß die aus 50 ccm Saft erhaltene Fällung einige Zeit mit Wasser digeriert, darauf filtriert und ein entsprechender Teil des Filtrates auf seine Gärkraft geprüft wurde. Hierbei tritt ein Verlust an Gärkraft ein. Derselbe konnte auf die Schwerlöslichkeit des Fällungsproduktes zurückgeführt werden, so daß ein längeres Digerieren vor dem Filtrieren notwendig erscheint. Versuche in dieser Richtung ergaben keine wesentliche Besserung, im Gegenteil trat, wenn das Digerieren länger als 1 Stunde fortgesetzt wurde, wieder eine geringe Abnahme der Gärkraft ein, indem nun wahrscheinlich die die Zymase zerstörende Wirkung der peptischen Enzyme zur Geltung kam.

Es erscheint nicht unwahrscheinlich, daß die Zymase durch die wasserentziehende Wirkung des Alkohols in einen anhydridartigen Zustand übergeführt wird. Andererseits konnte die angewendete 40-proz. Zuckerlösung ein geeigneteres Lösungsmittel sein als das Wasser. Versuche in letzterer Richtung führten keine Verbesserung herbei.

Ein günstiger Einfluß auf die physikalische Beschaffenheit des Niederschlages läßt sich dadurch erreichen, daß man statt absoluten Alkohols ein Gemenge von Alkohol und Aether zur Fällung verwendet. Man erhält hierdurch den Niederschlag in einer Form, welche einerseits seine Weiterbehandlung wesentlich erleichtert, andererseits auch leichter löslich zu sein scheint. Der erhaltene Niederschlag stellt nach dem Trocknen im Vacuum eine lockere, krümelige, sehr voluminöse Masse dar. Die Wiederauflösung erfolgte mittels 40-proz. Rohrzuckerlösung. Die erhaltenen Resultate waren wesentlich günstiger.

Aus dem Umstande, daß zur vollständigen Ausfällung der Zymase ein 12faches Volumen absoluten Alkohols erforderlich war, konnte man annehmen, daß es durch fraktionierte Fällung gelingen müsse, eine weitere Trennung der Zymase von den übrigen Bestandteilen des Preßsaftes zu erreichen.

Der mittels 200 ccm Alkohol aus 50 ccm Saft gewonnene Niederschlag enthält schon einen erheblichen Teil der Zymase. Das Filtrat der Fällung mit 600 ccm Alkohol wirkte noch energischer. Es konnte hierbei gleichzeitig festgestellt werden, daß die Zymase, wie anzunehmen, nur einen äußerst geringen Teil des Niederschlages bildet, denn bezüglich der Gewichtsmengen der beiden Fällungen ergab sich keine Differenz. Weiter darf aus dem Versuch geschlossen werden, daß die Fällung des Enzyms nicht auf dessen Unlöslichkeit im Fällungsmitttel beruht, sondern dadurch zustande kommt, daß die Zymase von den alkoholunlöslichen Bestandteilen des Preßsaftes mechanisch mit niedergerissen wird. Es besteht daher die Möglichkeit, durch Erzeugung irgend eines anorganischen Niederschlages in dem Preßsafte die Zymase ausfällen zu können.

Gleichzeitig mit den Verff. hat R. Rapp in München Aceton als Fällungsmittel angewandt. Zu diesem Zwecke wurden 100 ccm Preßsaft in 400 ccm reines Aceton einfließen lassen, der entstehende Niederschlag sofort abgesaugt, abgepreßt und im Vacuum über Schwefelsäure getrocknet. Von dem trockenen Produkt wurde die 20 ccm Saft entsprechende Menge in Rohrzuckerlösung suspendiert und die Gärkraft bestimmt.

Durch die Acetonfällung scheint ein beträchtlicher Teil der Gärkraft verloren zu gehen.

Verff. erwähnen noch, daß sie auch Methylalkohol als Fällungsmittel angewandt haben. Hierdurch wird jedoch auffallenderweise die Zymase vollständig zerstört, denn die Fällung verhielt sich Saccharose gegenüber vollständig indifferent, auch konnte aus dem Filtrat kein gärwirksames Produkt mehr gewonnen werden.

H. Will (München).

Albert, R. und **Buchner, E.**, Hefepreßsaft und Fällungsmittel. (Ber. d. deutsch. chem. Gesellsch. Bd. XXXIII. No. 2. p. 266—271.)

E. Buchner berichtet in der vorliegenden Mitteilung im wesentlichen, teilweise in erweitertem Umfang über die gleichen Versuche, über welche R. Albert in der Wochenschrift für Brauerei. 1900. No. 4. p. 49—51 berichtet hat. (Vergl. das Referat.)

H. Will (München).

Rosenstiehl, A., De la multiplication des levures sans fermentation en présence d'une quantité limitée d'air. (Compt. rend. de l'acad. des scienc. 1900. p. 195.)

Verf. isolierte aus Cider eine Hefeart, welche in Würze Gärung hervorrief, in Aepfelsaft dagegen nur Vermehrung zeigte, ohne eine merkbare Gärthätigkeit zu entfalten. Erst nach 2—3 maliger Uebertragung auf künstlicher Nährlösung gewinnt der Organismus die Fähigkeit, auch Aepfelsaft zu vergären. In Aepfelsaft, welcher bei 115° steriliert ist, findet auch keine Gärung statt, woraus folgt, daß die im Safte vorhandene Oxydase nicht die Ursache dieser Hemmung ist. Die Versuche des Verf.'s lassen vielmehr darauf schließen, daß die hemmende Wirkung von einer tanninähnlichen Substanz ausgeht. Durch einen Zusatz von 2,32 ‰ Gelatine läßt sich diese Verbindung aus dem Aepfelsaft herausfällen, und bei dieser Bedingung tritt auch in der That normale Gärung ein. Durch besondere Versuche wird gezeigt, daß die Gärthätigkeit in diesem Falle nicht durch den Stickstoffgehalt der Gelatine begünstigt wird. Zusatz von Tannin zu einer Nährlösung, in welcher normalerweise Gärung stattfindet, verhindert dieselbe und führt zu denselben Erscheinungen, welche im Aepfelsaft beobachtet wurden. Schließlich beschreibt der Verf. ein Kulturverfahren, durch welches die Möglichkeit einer Vermehrung der Hefe ohne Gärung bei beschränktem Luftzutritt in einfacher Weise demonstriert wird. G. Ritter (Moskau).

Dormeyer, C., Die rationelle Verwertung der Bierhefe. (Wochenschr. f. Brauerei. Jahrg. XVI. 1899. No. 43. p. 557—558.)

Ausgehend von Versuchen, auf einem anderen Wege als Buchner, den Zellsaft der Hefe zu gewinnen, fand D., daß dies möglich ist, wenn man die Hefe einer Kälteeinwirkung von etwa —16° aussetzt und sie dann rasch auf etwa 37° erwärmt. Die Hefezellen werden durch dieses plötzliche Auftauen gesprengt und lassen den Zellsaft heraustreten. Im großen kann man diesen sehr eiweißreichen Zellsaft gewinnen, indem man entweder das Wasser, in welchem man die Hefen zur Erwärmung brachte, im Vacuum eindampft oder indem man die sich rasch zu Boden setzenden Hefezellen durch eine Differentialhebelpresse auspreßt. D. machte aber bei diesen Versuchen eine weitere, soweit es sich bis jetzt beurteilen läßt, sehr bedeutsame Entdeckung. Setzt man nämlich Hefe, die etwa 70 Proz. Wasser enthält, einer Temperatur von etwa 48° aus, so wird die ganze Masse flüssig, indem die Zellen ihren Zellsaft entlassen; steigert man dann die Temperatur, so tritt unverkennbar ein spezifisch bratenähnlicher Geruch und bouillonartiger Geschmack auf. Da dieses Produkt filtrierbar ist, so wurde auf diesem Wege ein Extrakt gewonnen, das dem Fleischextrakt zum Verwechseln ähnlich ist. Es

ist dies in jeder Beziehung der Fall, und die Versuche haben gezeigt, daß das „Pflanzenfleischextrakt" dem echten Fleischextrakt in keiner Beziehung nachsteht. Es läßt sich, was bei Fleischextrakt nicht möglich ist, aus ihm auch ein trockenes Pulver gewinnen, das die Eigenschaften des Extraktes völlig unverändert zeigt; allerdings ist dasselbe sehr hykroskopisch.

Weitere Verwertung der Rückstände, die bei Herstellung des Extraktes sehr eiweißreich sind, kann man dadurch erzielen, daß man sie der Einwirkung gespannter Wasserdämpfe von etwa 4 Atmosphären aussetzt, man erhält dann ein lösliches Eiweißprodukt von der Art anderer diätetischer Eiweißpräparate. Endlich sind diese Rückstände auch noch benutzbar, wenn man sie mit Trockentrebern gemischt trocknet und als Viehfutter verwendet. Appel (Charlottenburg).

Schönfeld, F., Einige Versuche zur Fortzüchtung verschiedener Sarcinenrassen. [Mitteilung aus der Versuchs- und Lehranstalt für Brauerei in Berlin.] (Wochenschr. f. Brauerei. Jahrg. XVI. 1899. No. 51. p. 681—683.)

Während eine ganze Reihe von Bakterien ein längeres Fortzüchten auf künstlichen Substraten ohne Aenderung ihrer Eigenschaften ertragen, sind andere, besonders auch die Sarcinen, mehr oder weniger empfindlich gegen einen Wechsel in ihren Existenzbedingungen. Verf. untersuchte in dieser Beziehung 18 Formen der Gattung Sarcina, die er aus Bier, sowie dem Wasser und der Luft von Brauereien isoliert hat. Bezeichnet sind die einzelnen Formen durch Zahlen resp. Buchstaben, sie gehören aber insofern verschiedenen Gruppen an, als einige charakteristische Sarcinen mit ausgeprägter Paketbildung sind, andere in Heudekokt Pakete neben einfachen Tetraden bilden, der Rest aber nur zur Bildung von Pediokokkenformen zu bringen war. Auch bezüglich der Gelatineverflüssigung waren drei Gruppen zu unterscheiden: solche mit rascher und intensiver Verflüssigung, solche mit partieller und solche ohne Verflüssigung.

Im allgemeinen zeigte sich, daß ein Fortzüchten in Hefewasser oder sterilem Bier nach und nach zur Degeneration resp. zum Absterben der Sarcinen führt, dagegen in Bier, dem kräftig wachsende Hefe zugesetzt war, ein freudiges Wachstum eintrat. Es ist dies wohl darauf zurückzuführen, daß in den ersteren Nährböden ein zu reichlicher Sauerstoffzutritt stattfand, die untersuchten Formen aber in Kohlensäureatmosphäre besser gedeihen. Drei Arten machten eine Ausnahme, indem sie, auch auf Hefewassergelatine fortgezüchtet, sich völlig unverändert erhielten; es waren das Arten, die die Gelatine nicht verflüssigten und große Kolonieen zu bilden imstande waren.

Die Farbe der Kulturen war weiß bis gelb, eine rote Art verlor, wie das ja andere gefärbte Bakterienarten auch häufig thun, im Laufe der Fortzüchtung ihren Farbstoff, ohne daß er durch Anwendung anderer Substrate wieder hervorgebracht werden konnte. Auch auf die Form übte die Fortzüchtung wie der Wechsel des Substrates einen Einfluß aus, der bewies, daß die Fähigkeit der Paketbildung verloren gehen kann. Appel (Charlottenburg).

Vernhout, T. H., Onderzoek over Bacterien bij de Fermentatie der Tabak. (Mededeelingen uit S'Lands Plantentuin. XXXIV. Batavia 1899. Mit 2 Tafeln.)

Vernhout hat leider seine Untersuchungen über die Fermentation des Javatabaks abbrechen müssen, ohne dieselben zu Ende führen zu können. Die bislang erreichten Resultate sind in der vorliegenden 34. Mitteilung aus dem botanischen Garten zu Buitenzorg mitgeteilt.

Von den 6 Kapiteln sind die ersten beiden mehr historischer Natur und behandeln das Trocknen und die Fermentation des Tabaks an der Hand der vorhandenen Litteratur, während die übrigen den eigenen Untersuchungen gewidmet sind. Wie in Kapitel III auseinandergesetzt wird, ließ Verf. sich bei seinen Studien von dem Gedankengange leiten, daß bei der hohen Temperatur, die der Tabak beim Fermentieren erreicht (50° und mehr), wahrscheinlich thermophile Organismen eine wichtige Rolle in der Tabakgärung spielen. Die Litteratur über diese eigenartigen Organismen wird kurz besprochen und daraus der Schluß auf ihre sehr weite Verbreitung auf und in den verschiedensten Substraten gezogen. Um die Thermophilen des Tabaks zu gewinnen, brachte Vernhout Stücke von unfermentierten, fermentierenden und fermentierten Blättern, möglichst aus dem Innern eines Büschels, in steriles Wasser und hielt alles in einem Thermostaten bei 50° C. Schon nach 24 Stunden war in der braun gefärbten Flüssigkeit die Anwesenheit einer Menge von Bakterien und Sporen zu konstatieren. Zur Isolierung der einzelnen Arten bediente Verf. sich eines 3-proz. Bouillonagars und erhielt so Reinkulturen zweier Arten, des Bacillus A (B. tabaci-fermentationis) und des Bacterium B (B. tabaci-fermentationis), die im letzten Kapitel näher beschrieben und charakterisiert werden. Der Bestimmung der Mededeelingen entsprechend, ist die Beschreibung der Methoden u. s. w. sehr ausführlich und populär gehalten.

Der Bacillus tabaci-fermentationis ist ein sehr bewegliches, 1,75—2,5 μ langes und ca. 0,5 μ dickes Stäbchenbakterium aus der Gruppe der Heubacillen. In älteren Kulturen bildet der Organismus, wie der echte Heubacillus, lange Fäden auf der Oberfläche. Er ist obligat aërob und wächst noch bei 58° C. Sein Temperaturoptimum liegt zwischen 44 und 50° C. In der Mitte der Stäbchen entstehen ellipsoidische, ca. 1,5 μ große Sporen, die bei der Keimung sich mehr abrunden und seitlich auskeimen. Gelatinenährböden werden verflüssigt. Auch in Absuden von dachreifem Tabak wächst der Bacillus vorzüglich. Auch das Verhalten auf Agar und Gelatine (Strich- und Stichkulturen), auf Kartoffeln und in Bouillon wird beschrieben.

Das unbewegliche Bacterium tabaci-fermentationis ist ebenfalls streng aërob und gedieh am besten bei Laboratoriumstemperatur (auf Java 26° C), aber auch noch bei 50° gut, nicht mehr bei 53°. Auch hier sind die Einzelzellen (1,5—2,5$\times$0,45 μ) nur im jüngsten Zustande isoliert, später zu Fäden verbunden. Endosporen entstehen in der Mitte der Stäbchen. Sie sind stabförmig und 1,5 μ lang und keimen polar aus, ohne ein Exospor abzuwerfen

das letztere scheint zu verschleimen. Auch hier wird das Verhalten auf den obengenannten Nährböden näher beschrieben.

Beide Bakterien peptonisieren Eiweiß und bilden weiter Ammoniak.

Nur der Bacillus tabaci-fermentationis wurde ausnahmslos auf allen untersuchten ausfermentierten Tabaken gefunden. Das Bacterium tabaci-fermentationis wurde auf ausfermentierten Blättern überhaupt nicht gefunden, sondern nur auf einem Teile der während der Fermentation entnommenen Blätter. Meist wurde dann neben ihm auch der Bacillus gefunden, teilweise auch der letztere allein, selten das Bakterium allein. Wo beide zusammen vorhanden waren, da wurde das letztere nur auf den bei Zimmertemperatur gehaltenen Platten gefunden. Aus dem allgemeinen Vorkommen des Bacillus auf fermentiertem, dem fast allgemeinen auf fermentierendem Tabak schließ Vernhout, daß derselbe bei der Tabakfermentation die wesentliche Rolle spielt. Auf unfermentiertem Tabak wurde er weit seltener gefunden als das Bakterium. Auch das letztere spielt vielleicht, wenigstens bei der Vorfermentation und im Anfange des Fermentationsprozesses, eine Rolle. Weitere Untersuchungen dürften darüber sowie über die Rolle noch anderer Bakterien, die vom Verf. auf Tabak gefunden wurden, Auskunft geben.

Kapitel IV beschäftigt sich mit den Ergebnissen von Gärversuchen mit halbierten Blättern im Laboratorium. Dieselben wurden überall teils mit sterilisiertem und dann mit dem Bacillus geimpftem, teils mit nicht sterilisiertem und ungeimpftem, teils mit sterilisiertem und ungeimpftem Materiale in Petri-Schalen bei 50° vorgenommen. Aus den gefundenen Thatsachen schließt Verf.:

1) daß die Tabakfermentation ganz oder zum Teil auf der Thätigkeit von Bakterien beruht — sterilisierte und ungeimpfte Blätter fermentieren nicht! — und daß

2) der Bacillus A dabei eine wesentliche Rolle spielt.

Nur die nicht sterilisierten sowie zum großen Teil die mit dem Bacillus tabaci-fermentationis geimpften Blatthälften zeigten das charakteristische Aroma des fermentierenden resp. fermentierten Tabaks.

Das V. Kapitel handelt über Versuche mit dem Bacillus tabaci-fermentationis in der Praxis. Die Tabakbüschel wurden dabei in der Weise geimpft, daß man sie mit einer filtrierten Aufschwemmung einer 24 Stunden alten Agarkultur in gekochtem Wasser mittels eines Pulverisators bespritzte. Zur Kontrolle wurden die Büschel eines anderen Stockes mit reinem sterilisierten Wasser benetzt. Leider konnte das endgiltige Ergebnis der Versuche nicht kontrolliert werden. Bezüglich des Ganges der Fermentation, soweit er aus dem Verlaufe der Temperatursteigerung zu ersehen ist, ließ sich zwischen dem geimpften und dem ungeimpften Stocke kein Unterschied konstatieren.

Von Interesse gegenüber den Anschauungen Loew's ist das am Schlusse mitgeteilte Ergebnis von Untersuchungen Raciborski's, nach denen im dachreifen Javatabak sowohl Oxydasen wie Peroxydasen (Leptomim) fehlen, also auch bei der Fermentation keine Rolle spielen können.

Behrens (Karlsruhe).

Splendore, A., Il „Sajorno". (Estratto dal Giornale Il Tabacco. No. 34. Roma 1899.)

Als „Sajorno" werden trockene, olivenbraune, unregelmäßige Blattflecken auf Tabakblättern bezeichnet, in denen Pilzmycel gefunden wird. Auf fabrikationsfähigen Blättern läßt sich zuweilen im feuchten Raume eine Alternaria, wohl identisch mit Alternaria tenuis (Nees) und mit ihr vielfach ein Macrosporium züchten. In Manila wird diese Fleckenkrankheit als „lavado" bezeichnet; sie soll besonders in regnerischen Jahren auftreten. Ob die Alternaria und das Macrosporium wirklich parasitisch auftreten und die Flecken verursachen, ist nicht entschieden. Behrens (Karlsruhe).

van Breda de Haan, J., Levensgeschiedenis en bestrijding van het tabaks-aaltje (Heterodera radicicola) in Deli. (Mededeelingen uit S'Lands Plantentuin. XXXV. Met drie platen.) Batavia 1899.

Schon 1896 hatte Breda de Haan in der Teysmannia einen vorläufigen Bericht über das Vorkommen der Tabakmüdigkeit, verursacht durch eine in Anschwellungen der Wurzelenden lebende Nematode, in Deli gegeben. Die vorliegende Mitteilung bringt das endgiltige Resultat seiner Arbeiten über die Erkrankung.

Danach wird der Parasit jetzt identifiziert mit Heterodera radicicola, die bekanntlich auf zahlreichen Pflanzenarten der verschiedensten Familien parasitiert. Auch in Deli ist sie auf verschiedenen Pflanzen nicht selten und kommt selbst auf ursprünglichem Urwaldsboden vor. Von ihr befallen werden auf Java resp. Sumatra das häufige Unkraut Ageratum conyzoides, ferner Andropogon Schoenanthus, Ocymum basilicum, Polygala oleifera, Piper betle u. s. w.

Wenn die Heterodera intercellular in das Wurzelgewebe des Tabaks eindringt, so hat der Reiz eine Gallenbildung zur Folge. In der Galle sind die Gefäße deformiert, das Parenchym abnorm vergrößert, und eine Anzahl von Parenchymzellen wird zu Riesenzellen, indem sie sich abnorm vergrößern. Dabei tritt zunächst Teilung der Zellkerne durch eine Art Fragmentation, endlich Degeneration derselben zu körnigen, nicht mehr scharf vom Plasma gesonderten Gebilden ein.

In der Galle schwillt das Weibchen zum Eierbehälter an. Die Larven werden nach dem Verlassen der Eihüllen frei durch einen Spalt im Gallengewebe, kommen so in den Boden, in dem sie wahrscheinlich eine Zeit lang sich saprophytisch ernähren, jedenfalls aushalten können, und dringen dann wieder in neue Nährwurzeln ein.

Die Gallenbildung an den Wurzeln kann selbstverständlich empfindliche Ernährungsstörungen zur Folge haben. Schon der Verbrauch an Nahrung für die Gallenbildung bedeutet einen Entzug an solcher für die anderen Teile der Pflanze. Insbesondere aber stellt die Galle ein Hindernis für die Wasserbewegung dar. Die alten Gallen öffnen sich, wie bereits erwähnt, durch Spalten und verfallen der Fäulnis, indem Fäulnisorganismen eindringen. Damit ist eine weitere Gefahr für die Tabakpflanze geschaffen, indem jede ältere Galle

eine offene Eingangspforte für pflanzliche Parasiten und Fäulniserreger bildet.

Dementsprechend findet man an oberirdischen Teilen von Heterodera stärker befallener Tabakpflanzen eine dürftige Entwickelung von Blättern und Stamm und ein abnorm frühes Gelbwerden und Absterben der unteren Blätter. Bei anhaltender Trockenheit machen sich auch die Folgen des beschränkten, weil vielfach unterbrochenen Wasserzuflusses geltend. Das Wurzelsystem befallener Pflanzen steht auch in seinem Umfang und seiner Verzweigung gegen das gesunder Pflanzen zurück. Nur wenn alle äußeren Verhältnisse günstig sind, tritt die Schädigung durch Heterodera weniger in Erscheinung.

Dementsprechend kann durch guten Bau den schädlichen Wirkungen des Parasiten entgegengetreten werden. Als direktes Bekämpfungsmittel bewährte sich im Kleinen wiederholte gründliche Bodenbearbeitung verbunden mit Schwarzbrache, so daß der Boden austrocknete, was Heterodera nicht verträgt. Auch Behandlung des Bodens mit Benzin gab günstige Resultate. Endlich kommt noch der Anbau von Fangpflanzen in Betracht, als welche sich Tabak von selbst empfiehlt. Vorbeugendes Mittel ist die Verhütung der Verschleppung durch Ackergeräte, Pflanzen, Kompost u. s. w.

Behrens (Karlsruhe).

v. **Schilling**, Frhr., Der Rindenwickler, ein nichtswürdiger Krebserreger. (Prakt. Ratgeber im Obst- u. Gartenbau. 1900. p. 29 ff.)

Nach den Untersuchungen des Verf.'s gehört der Rindenwickler, Carpocapsa (Grapholitha) Wöberiana W. V. zu den Erregern des offenen oder brandigen Krebses, den man gewöhnlich auf Nectria ditissima zurückzuführen pflegt. Verf. beschreibt den Schädling, der sich von ähnlichen durch fünf kommaförmige weiße Häkchen am vorderen Rande der Vorderflügel auszeichnet, und schildert alsdann die Art der Beschädigung, die sich etwa in der Weise äußert, daß die Räupchen, die aus den an den jungen Fruchtzweigen, Adventivknospen etc. abgelegten Eiern sich entwickeln, sich an der Basis des Eisitzes in die Rinde einbohren und ihre Fraßgänge im Jungsplint in Schneckenlinien um die Sproßbasis herumtreiben. Besonders gefährlich werden die Tiere angeblich dadurch, daß sie solche Stellen, an denen einmal die Eiablage stattgefunden hat, auch ferner wieder gern dazu benutzen, was zur Folge hat, daß die kranken Stellen sich immer mehr vergrößern und schließlich zum Absterben der betreffenden Zweigpartieen führen. Befallen werden: Aepfel, weniger Birnen, Pfirsiche, Aprikosen, Reineclauden und andere Pflaumenarten. Als Bekämpfungsmittel wird Aussägen der kranken Stellen und dickes Belegen der befallenen Zweige mit Baummörtel empfohlen.

Krüger (Berlin).

Untersuchungsmethoden, Instrumente etc.

Huber, Alfred, Ein neuer Apparat zur Massenfärbung von mikroskopischen Präparaten. (Wiener med. Wochenschrift. 1899. No 38 p. 1759—1761.)

Verf. benutzt zur Färbung einer größeren Anzahl von Präparaten eine Wanne mit einem Einsatz, dessen Seitenwände aus Wellblech bestehen, ähnlich den in der Photographie üblichen Wannen bei den Wässern der Platten. Appel (Charlottenburg).

Friedenthal, Hans, Ueber eine neue Methode zur Bestimmung der Wirksamkeit von Fermentlösungen. (Centralbl. f. Physiologie. Bd. XIII. p. 481—485.)

F. nimmt als Ausgangspunkt für die Messung der Fermentwirkung die Zahl der durch eine bestimmte Fermentmenge in einer gewissen Zeit entstandenen Moleküle und bezeichnet als Fermenteinheit diejenige Fermentmenge, welche in der Zeiteinheit in 1-proz. Lösung die Molekularzahl um ein Bestimmtes vervielfacht. Die Bestimmung der Molekularzahl geschieht dabei am einfachsten durch Messung der Gefrierpunkterniedrigung, so daß man als Fermenteinheit diejenige Menge bezeichnen kann, welche in 1 Minute in 1-proz. Lösung des zu verdauenden Körpers den Gefrierpunkt um 0,1° herabsetzt. Besonders ist die Anwendung dieser Maßeinheit praktisch für colloidale Körper, während für Substanzen, bei denen das Molekulargewicht der Ausgangssubstanz bekannt ist, es sich mehr empfiehlt, als Fermenteinheit diejenige Menge zu bezeichnen, die in der Zeiteinheit in 1-proz. Lösung die Gefrierpunktserniedrigung verdoppelt.

Zur Ausführung solcher Untersuchungen hat F. den Beckmann'schen Apparat für die Bestimmung der Gefrierpunktserniedrigung etwas abgeändert. Die Hauptvorteile der Veränderung liegen darin, daß an Stelle des Beckmann'schen Thermometers ein solches gesetzt ist, welches die absoluten Grade von +1° bis —5°, in je 50 Teile geteilt, zeigt. Dadurch wird es möglich, mit einer einzigen Ablesung die Gefrierpunktserniedrigung festzustellen. Das Quecksilbergefäß ist kleiner und daher genügen schon 6 ccm Flüssigkeit zur Bestimmung. Der Gefriercylinder taucht ohne Luftmantel direkt in eine Kältemischung.

Mit diesem vereinfachten Apparat ist es möglich, in 6 Minuten eine Bestimmung auszuführen. Appel (Charlottenburg).

Macchiati, L., Di un carattere certo per la diagnosi delle Batteriacee. (Nuovo giornale botanico italiano. Nuova serie. Vol. VI. 1899. p. 1384.)

Auf die umfängliche Einleitung folgen einige rekapitulierende Angaben über die vom Verf. schon in verschiedenen Mitteilungen behandelte Frage nach dem Pleomorphismus der Bakterien. Bacillus Cubonianus, B. Baccarinii, der aus den am Mal nero erkrankten Rebstöcken gewonnen wurde, B. Cuginianus, ebenfalls

ein Rebenschädling, und Streptococcus Bombycis, ein Parasit des Seidenwurmes, werden besprochen. Von neuen Beispielen für Pleomorphismus nennt Verf. die in seinem Laboratorium untersuchten Streptococcus pseudobacillaris und Str. aeris. Der erste wurde aus Brunnenwasser isoliert, der zweite im Laboratorium des Verf.'s aus der Luft aufgefangen. Beide sollen in Kokken- und in Stäbchenform wachsen, je nach der Art des ihnen dargebotenen Nährbodens.

Nach Ansicht des Verf.'s erweisen sich somit die morphologischen Merkmale eines Mikroorganismus als trügerisch und oft ungeeignet zum Bestimmen. Das sichere Erkennungsmerkmal, von dem im Titel die Rede ist, bringt erst der Habitus der Kolonie. Im Schlußabschnitte seiner Arbeit weist Verf. auf die Notwendigkeit hin, die Habitusbilder von Bakterienkolonieen in Photographieen festzuhalten.

Küster (Halle a. S.).

Neue Litteratur,

zusammengestellt von

San.-Rat Dr. Arthur Würzburg,

Bibliothekar im Kaiserl. Gesundheitsamte in Berlin.

Allgemeines über Bakterien und Parasiten.

Goethe, R., Bericht der kgl. Lehranstalt für Obst-, Wein- und Gartenbau zu Geisenheim a. Rh. für das Etatsjahr 1898/99. gr. 8⁰. 107 p. Wiesbaden 1899.

Untersuchungsmethoden, Instrumente etc.

Stewart, C. B., Apparatus for heating cultures to separate spore bearing micro-organisms. (Centralbl. f. Bakteriol. etc. I. Abt. Bd. XXVII. 1900. No. 10/11. p. 366—367.)

Systematik, Morphologie und Biologie.

Cordier, J. A., Recherches sur les levures du vignoble de Champagne. Contribution à la biologie des levures de vins. [Thèse.] 8⁰. 67 p. Paris (Soc. d'édit. scientif.) 1900.

Dienert, F., Sur la fermentation du galactose et sur l'accoutumance des levures à ce sucre. (Annal. de l'Instit. Pasteur. 1900. No. 3. p. 139—189.)

Feinberg, Ueber den Bau der Bakterien. (Centralbl. f. Bakteriol. etc. I. Abt. Bd. XXVII. 1900. No. 12/13. p. 417—426.)

Joergensen, A., Les micro-organismes de la fermentation. Trad. par P. Freund. 2. éd. franç. 8⁰. II, 436 p. Avec 79 grav. Paris (Soc. d'édit. scientif.) 1900.

Klebahn, H., Kulturversuche mit Rostpilzen. VIII. Bericht (1899). (Jahrb. f. wissenschaftl. Botanik. Bd. XXXIV. 1900. Heft 3. p. 347—404.)

v. Kujawski, K., Zweite Notiz über Saccharomyces anomalus. Erwiderung an Herrn Dr. Will. (Ztschr. f. d. ges. Brauwesen. 1900. No. 12. p. 177.)

Lindner, P., Die biologische Bedeutung der Zymase für die Hefe. (Wchschr. f. Brauerei. 1900. No. 13. p. 173—174.)

v. Linstow, Tetrabothrium cylindraceum Rud. und das Genus Tetrabothrium. (Centralbl. f. Bakteriol. etc. I. Abt. Bd. XXVII. 1900. No. 10/11. p. 362—366.)

Lüstner, G., Ueber eine neue Gallmücke des Weinstockes, Clinodiplosis vitis nov. spec. (Entomol. Nachrichten. 1900. No. 6. p. 81—85.)

Magnus, P., Les ustilaginées du Cynodon dactylon (L.) et leur distribution géographique. 8⁰. 8 p. Lons-le-Saunier (Impr. Declume) 1899.

Oppenheimer, C., Versuch einer einheitlichen Betrachtungsweise der Fermentprozesse. (Biol. Centralbl. Bd. XX. 1900. No. 6. p. 198—208.)

Renault, B., Sur quelques nouvelles bactériacées de la houille. (Compt. rend. de l'acad. d. scienc. T. CXXX. 1900. No. 11. p. 740—742.)
de Ribaucourt, E., Sur quelques détails de l'anatomie comparée des lombricides. (Compt. rend. da la soc. de biol. 1900. No. 12. p. 299—300.)
Ritzema Bos, J., Aanteekeningen betreffende de leefwijze en de schadelijkheid der Cetonias. (Tijdschr. over plantenziekten. 1899. aflev. 1. p. 12—23.)
Shirai, M., Ueber den genetischen Zusammenhang zwischen Roestelia koreaensis P. Henn. und Gymnosporangium japonicum Sydow. (Ztschr. f. Pflanzenkrankh. Bd. X. 1900. Heft 1. p. 1—5.)
de Wildeman, E., Une nouvelle chytridinée (Micromyces Mesocarpi). (Mémoir. de l'Herbier Boissier. 1900. No. 3.) 8°. 2 p. 0,50 fr.
Wortmann, J., Bericht über die Thätigkeit der mit der pflanzenphysiologischen Versuchsstation verbundenen Hefereinzucht-Station in Geisenheim a. Rh. (Weinbau u. Weinhandel. 1900. No. 8—10. p. 62—63, 77—87.)

Beziehungen der Bakterien und Parasiten zur unbelebten Natur.

Luft und Wasser.

Causse, H., Sur les eaux contaminées des puits de la Guillotière et des Brotteaux à Lyon. (Compt. rend. de l'acad. d. scienc. T. CXXX. 1900. No. 9. p. 579—581.)
Henry, J., Stérilisation de l'eau par le filtre Lapeyrère. (Rev. d'hygiène. 1900. No. 3. p. 233—240.)

Milch, Molkerei.

Hamilton, G., Einiges über Herstellung von Käsen aus pasteurisierter Milch. (Milch-Ztg. 1900. No. 10. p. 145—146.)

Wein, Weinbereitung.

Müller-Thurgau, H., Krankheiten der Obst- und Traubenweine. (Schweiz. Ztschr. f. Obst- u. Weinbau. 1900. No. 1. p. 9—11.)

Andere Nahrungs- und Genußmittel.

Aderhold, Zwei gefährliche Erkrankungsfälle unseres Kernobstes. (Proskauer Obstbau-Ztg. 1900. März. p. 39—42.)
Vernhout, J. H., Onderzoek over bacteriën bij de fermentatie der tabak. (Mededeel. uit S'Lands plantentuin.) 4°. XXXIV, 48 p. Batavia (G. Kolff & Co.) 1899.

Wohnungen, Abfallstoffe etc.

Brix, J., Neues über das biologische Abwasser-Reinigungsverfahren. (Gesundheit. 1900. No. 1. p. 1—4.)

Beziehungen der Bakterien und Parasiten zu Pflanzen.

Harmlose Bakterien und Parasiten.

Lutosławski, J., Beitrag zur Lehre von der Stickstoffernährung der Leguminosen, speziell Versuche, die Zunahme des Stickstoffgehaltes bei mit Bakterien in Symbiose getretenen Erbsen und Wicken in den verschiedenen Entwickelungsperioden und unter verschiedenen Düngungsverhältnissen zu bestimmen. (Ber. a. d. physiol. Laborat. u. d. Versuchsanst. d. landwirtschaftl. Inst. d. Univers. Halle, hrsg. von J. Kühn. 1900. Heft 14. p. 36—65.)

Krankheitserregende Bakterien und Parasiten.

Altum, Bemerkenswerte Insektenerscheinungen in der Umgebung von Eberswalde im Sommer 1899. (Ztschr. f. Forst- u. Jagdwesen. 1900. Heft 3. p. 168.)
Carruthers, J. B., Cacao disease. (Planting opinion. 1899. p. 18—20.)
Doerstling, P., Auftreten von Aphis an Wurzeln von Zuckerrüben. (Ztschr. f. Pflanzenkrankh. Bd. X. 1900. Heft 1. p. 21—22.)
Eriksson, J., Giftiges Süßgras, Glyceria spectabilis, von Ustilago longissima befallen. (Ztschr. f. Pflanzenkrankh. Bd. X. 1900. Heft 1. p. 15—16.)
Frank, Aufforderung zum allgemeinen Kampf gegen die Fusicladium- oder sog. Schorfkrankheit des Kernobstes. Hrsg. von der biolog. Abt. f. Land- u. Forstwirtsch. am

kaiserl. Gesundheitsamte. gr. 8°. 4 p. m. 1 Abbildg. Berlin (Paul Parey — Julius Springer) 1900. 0,05 M.
Kühn, J., Der gemeine Teufelszwirn, Cuscuta europaea L., ein neuer Feind der Lupinen, nebst Bemerkungen über Verbreitung und Bekämpfung der landwirtschaftlich schädlichen Seidearten. (Ber. a. d. physiol. Laborat. u. d. Versuchsanst. d. landwirtschaftl. Inst. d. Univers. Halle, hrsg. von J. Kühn. 1900. Heft 14. p. 144—155.)
Mangin, L., Sur la maladie des oeillets à Antibes. (Compt. rend. de la soc. de biol. 1900. No. 11. p. 248—251.)
Nefsler, J., Das Bekämpfen des Mehltaues (Oïdium). (Amtsbl. d. Landwirtschaftskammer f. d. Reg.-Bez. Wiesbaden. 1900. No. 10. p. 62—63.)
Ravaz, L. et Bonnet, A., Sur le parasitisme du Phoma reniformis. (Compt. rend. de l'acad. d. scienc. T. CXXX. 1900. No. 9. p. 590—592.)
Ritzema Bos, J., Twee tot dus ver onbekende ziekten in Phlox decussata. (Tijdschr. over plantenziekten. 1899. aflev. 2. p. 27—32.)
— —, Een gevaarlijke vijand der ooftboomen. (Ibid. aflev. 5/6. p. 168—169.)
— —, Verdelging van slakken en andere schadelijke dieren door eenden en kippen. (Ibid. p. 169—170.)
— —, Een bacteriënziekte der Syringen. (Ibid. p. 177—183.)
v. Schrenck, H., A disease of Taxodium distichum known as peckiness, also a similar disease of Libocedrus decurrens known as pin-rot. (Missouri botan. garden. 11. annual rep. 1900. p. 23—77.)
Sorauer, P., Das Kirschensterben am Rhein. (Prakt. Ratgeber im Obst- u. Gartenbau. 1900. No. 11. p. 102—103.)
— —, Das massenhafte Absterben der Süßkirschen am Rhein. (Naturwissenschaftl. Wchschr. 1900. No. 12. p. 133—135.)
— —, Erkrankungsfälle durch Monilia. (Ztschr. f. Pflanzenkrankh. Bd. IX. 1899. Heft 4. p. 225—235.)
Stift, A., Einige Mitteilungen über die Bakteriose der Zuckerrüben. (Ztschr. f. Pflanzenkrankh. Bd. X. 1900. Heft 1. p. 5—15.)
Weifs, Die Pilzkrankheiten unserer Kulturgewächse. (Prakt. Blätter f. Pflanzenschutz. 1900. Heft 1—3. p. 5—7, 12—13, 22—23.)
— —, Die Ursachen eines schlechten Erfolges bei Bespritzungen mit Kupfermitteln. (Ibid. Heft 2. p. 13—15.)

Inhalt.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.

Centralblatt für Bakteriologie, Parasitenkunde u. Infektionskrankheiten.

Zweite Abteilung:

Allgemeine, landwirtschaftlich-technologische Bakteriologie, Gärungsphysiologie, Pflanzenpathologie und Pflanzenschutz.

In Verbindung mit
Prof. Dr. **Adametz** in Wien, Prof. Dr. **J. Behrens** in Karlsruhe i. B., Prof. Dr. **M. W. Beijerinck** in Delft, Geh. Regierungsrat Prof. Dr. **A. B. Frank** in Berlin, Dr. **v. Freudenreich** in Bern, Privatdocent Dr. **Lindau** in Berlin, Prof. Dr. **Lindner** in Berlin, Dr. **Morris**, Chef des Hansen-Laboratory, Jenner-Institute of Preventive Medicine in London, Prof. Dr. **Müller-Thurgau** in Wädensweil, Dr. **Erwin F. Smith** in Washington, D. C., U. S. A., Prof. Dr. **Stutzer** in Breslau, Prof. Dr. **Wehmer** in Hannover, Prof. Dr. **Weigmann** in Kiel und Prof. Dr. **Winogradsky** in St. Petersburg

herausgegeben von

Dr. O. Uhlworm in Cassel

und

Prof. Dr. Emil Christian Hansen in Kopenhagen.

Verlag von Gustav Fischer in Jena.

VI. Bd. | **Jena**, den 8. Juni 1900. | **No. 12.**

Jährlich erscheinen 26 Nummern. Preis für den Band (Jahrgang) 20 Mark. Preis für eine einfache Nummer 75 Pfg., für eine Doppelnummer 1 Mark 50 Pfg. Nummern mit Tafeln kosten für jede Tafel 50 Pfg. mehr.

Hierzu als regelmäfsige Beilage die Inhaltsübersichten der I. Abteilung des Centralblattes.

Wünsche wegen Lieferung von besonderen Abdrücken wollen die Herren Mitarbeiter auf die Manuskripte schreiben oder bei Rücksendung der ersten Korrekturabzüge der Verlagsbuchhandlung mitteilen.

Original-Mitteilungen.

Nachdruck verboten.

Chemische und biologische Untersuchungen über Sake-Bereitung.

Von **Y. Kozai.**

Das unter „Sake“ oder Reiswein bekannte, durch spontane Gärung aus Reis hergestellte Getränk soll der Sage nach schon vor 2600 Jahren in Japan bereitet worden sein. Eine sichere Kunde von der Bekanntschaft der Japaner mit diesem Getränk rührt aber erst aus der Zeit des Kaisers Suijin (90 v. Chr.) her, indem berichtet wird,

daß zu jener Zeit spezielle Aufseher über die Sakeherstellung am kaiserlichen Hofe angestellt waren. Gegen Ende des 4. Jahrhunderts erfuhr das Verfahren eine bedeutende Verbesserung durch den Verkehr mit Chinesen und Koreanern, die damals auf einer höheren Kulturstufe standen. Darauf scheinen weitere Fortschritte in der Technik der Sakebereitung nicht gemacht worden zu sein bis gegen das Ende des 17. Jahrhunderts, wo man die Kunst, durch Erhöhung der Temperatur dem Getränke mehr Haltbarkeit zu verleihen, d. h. das Verfahren des Pasteurisierens, erfand. Letzteres stellte die Sakebereitung auf festen Boden und beförderte deren Uebergang vom landwirtschaftlichen zum gewerbsmäßigen Betrieb. Erst von diesem Zeitpunkt an begann sich in Japan eine eigentliche Sake-Industrie zu entwickeln. In stetem Wachstum nahm dieselbe allmählich einen so großen Umfang an, daß im Jahre 1897/98 die Produktion nahezu 8,4 Mill. Hektoliter — bei einem durchschnittlichen Verbrauch von ca. 19,5 Liter pro Kopf — betrug, was dem Staat an Steuer ungefähr 55 Mill Mark abwarf.

Eine Industrie von so großer volkswirtschaftlicher Bedeutung hat sich natürlich der Aufmerksamkeit mancher Forscher nicht lange entziehen können, und so mangelt es nicht an Publikationen, die sich damit mehr oder weniger ausführlich beschäftigen. Ueber diese Veröffentlichungen hat Wehmer[1]) im Jahre 1895 einen geschichtlich-kritischen Ueberblick gegeben, in welchem er den bis dahin von manchen Forschern mißverstandenen Sachverhalt klarstellte, so daß wir die für unseren Zweck wichtigsten Untersuchungen nur kurz zu streifen brauchen.

Die älteste in einer Sprache des Abendlandes abgefaßte Abhandlung über Sakebrauerei rührt von Hoffmann[2]) her, in der aber nur das praktische Verfahren in kurzen Zügen geschildert wurde. Hieran schließt sich eine umfangreiche und verdienstvolle Arbeit von Korschelt[3]). In ihr finden wir nicht nur eine ausführliche Darstellung der Art und Weise der Sakeherstellung, sondern auch eine Beschreibung des dabei eine große Rolle spielenden Koji-Pilzes und dessen nähere Beziehung zum eigentlichen Gärungsprozesse. Einige Jahre später, nachdem eine kurze Mitteilung von Kinch[4]) über das Gärungsverfahren erschienen war, veröffentlichte Atkinson[5]) eine ausführliche Abhandlung über Sakebrauerei. In dieser entwarf er nicht nur eine genaue Schilderung der Sakeherstellung, sondern stellte die Natur des bei der Einwirkung des Kojienzyms, d. h. des Korschelt'schen „Eurotins", auf Stärke entstehenden Zuckers einigermaßen klar. Auf diesen älteren Angaben wesentlich fußend, machten verschiedene Forscher, wie Fr. Cohn[6]), Bosgen[7]), Rein[8])

1) Centralblatt für Bakteriologie. 2. Abt. Bd. I. p. 565.

2) Mitteilungen der deutschen Gesellschaft f. Natur- und Völkerkunde Ostasiens zu Tokio. Heft 6. p. 187.

3) Ebenda. 1878. Heft 16.

4) Sidney International Official Catalog of Exhibits.

5) The chemistry of sake-brewing in Japan. Tokyo 1881.

6) Jahresbericht der Schlesischen Gesellsch. f. vaterl. Kultur. Bd. LXI. 1883. p. 226.

7) Berichte d. Deutsch. bot. Gesellsch. 1885. Generalvers.-Heft 9. p. 66.

8) Rein's Japan. Bd. II. p. 111.

und Fesca[1]) über den Prozeß mehr oder weniger ausführliche Mitteilungen. Besonders interessant in Bezug auf die Enzymwirkung des Kojipilzes ist die Arbeit von O. Kellner, Mori und Nagaoka[2]). Ihr verdanken wir außer anderem die Kenntnis, daß das Kojienzym mit Leichtigkeit Rohrzucker invertiert, Maltose in Dextrose umwandelt und aus Stärke Maltose und Dextrose bildet, Milchzucker und Inulin dagegen nicht verändert. Weitere Forschungen von Okamura und Takakusu[3]) sowie von Newcombe[4]) ergaben, daß der Kojipilz „Cytase", nach Asso[5]) auch Oxydase abzusondern vermag. Von botanischer Seite trat man der Sache erst im Jahre 1883 näher, indem F. Cohn[6]) den bis dahin von Ahlburg als „Eurotium Oryzae" bezeichneten Kojipilz als zu den Aspergillus-Arten gehörig erkannte und denselben mit dem Namen „Aspergillus oryzae" belegte. Die weiteren Untersuchungen von Bosgen[7]) Schröter[8]), besonders aber von Wehmer[7]) haben die morphologischen Eigenschaften dieses interessanten Pilzes klargestellt.

Unterliegt es keinem Zweifel mehr, daß der sowohl von chemischer wie auch von botanischer Seite eingehend studierte Kojipilz eine ursächliche Beziehung zum Verzuckerungsprozeß der Reisstärke besitzt, so herrscht zur Zeit über die Natur und Herkunft des Erregers der alkoholischen Gärung in den Sakemaischen noch große Unklarheit. Korschelt[9]) hielt es für sehr wahrscheinlich, daß die Konidien des Kojipilzes sich allmählich in Hefezellen umwandeln, welche die alkoholische Gärung hervorrufen. Diese Auffassung, die als eine wichtige Stütze der früher herrschenden Ansicht, wonach die Saccharomyceten als Entwickelungsglieder höherer Pilze anzusehen seien, betrachtet werden könnte, wurde später von Atkinson[10]), Cohn[11]) und Bosgen[12]) bestritten.

Diese Forscher behaupteten ohne Beweisführung, daß die Hefezellen aus der Luft in die Maische gelangen. Seit jener Zeit war die Frage nach der Abstammung der Saccharomyceten für kurze Dauer mehr oder weniger von der Bildfläche verschwunden, um nach einigen Jahren aufs neue aufzutauchen. Den Anstoß hierzu gaben Takamine's Patente[13]) und die sich daran knüpfenden zahlreichen amerikanischen und englischen Publikationen, in welchen die erwähnte Umbildung nicht nur des Kojipilzes, sondern auch anderer Schimmelpilze als Thatsache angesehen wurde. Hierzu nahmen verschiedene Forscher Stellung und brachten Gründe vor,

1) Fesca's Beiträge zur Kenntnis der japanischen Landwirtschaft. Bd. II. p. 108.
2) Zeitschrift f. physiologische Chemie. Bd. XIV. Heft 3.
3) laut brieflicher Mitteilung.
4) Annals of Botany. Vol. 13. 1899. Nr. 49.
5) A. a. O.
6) A. a. O.
7) Cohn's Krytogamenflora Schlesiens. 1893.
8) Centralbl. f. Bakteriologie. Abt. II. Bd. I. p. 150.
9) A. a. O.
10) A. a. O.
11) A. a. O.
12) A. a. O.
13) Ein amerikanisches Patent No. 411231, ein deutsches No. 79763.

die bald für, bald aber gegen diese Ansicht sprachen. Unter diesen ist in erster Linie eine Mitteilung O. Kellner's[1]) über Sakebrauerei zu verzeichnen, in der er u. a. nicht nur jeden Zusammenhang des Kojipilzes mit der Alkoholgärung als unmotiviert erklärt, sondern auch verschiedene Gründe angiebt, die für die Luftinfektion sprechen. Bald darauf erschien eine kurze, mit Jörgensen's Bestätigung versehene Abhandlung Juhler's[2]), welcher behauptet, den Kojipilz in der That in einen charakteristischen Saccharomyceten übergeführt und so den Nachweis für die Abstammung der letzteren von höheren Pilzen erbracht zu haben. Wegen der hohen wissenschaftlichen Bedeutung der in Rede stehenden Frage veröffentlichte E. Chr. Hansen[3]) seine Ansicht, nach welcher die Abstammung der Saccharomyceten von den Schimmelpilzen nur dann als wirklich erwiesen anzusehen sei, wenn es gelänge, aus typischen Saccharomyceten Aspergillen zur Entwickelung zu bringen. Wehmer bezweifelte ebenfalls in seinen schon erwähnten Arbeiten diese Umbildung. Auch wir zeigten in Gemeinschaft mit Yabe, daß die in der Sakegärung vorhandenen Hefezellen mit dem Kojipilz gar nichts zu thun haben[4]). Der endgiltige Beweis für die Unhaltbarkeit der Auffassung, daß die Konidieen des Kojipilzes in Hefezellen umgewandelt werden, wurde dann durch eingehende Untersuchungen von Klöcker und Schiönning[5]) erbracht. Zu dem nämlichen Resultat ist auch Seiter[6]) gekommen. Diese letztgenannten 3 Forscher haben auch den inzwischen veröffentlichten Befund Sorrel's[7]), wonach die Mycelfäden des Kojipilzes und die Hefezellen ineinander umgewandelt werden könnten, experimentell widerlegt. Endlich fand Sanguineti[8]), daß der Kojipilz in einem stärkehaltigen Hefewasser eine geringe alkoholische Gärung hervorrief — eine Erscheinung, die wir aber aus der zuerst von Lechartier und Bellamy[9]) beobachteten und nachher von Brefeld[10]), Diakonow[11]) u. A. bestätigten intramolekularen Atmung[12]) zu erklären haben werden.

Hat sich also die Umbildung des Kojipilzes in Hefezellen als eine bloße Mutmaßung ohne irgend eine wissenschaftliche Grundlage herausgestellt, so bleibt die Frage nach der Herkunft der bei der Sakegärung anwesenden Hefezellen immer noch eine offene. Freilich

---

1) Chemiker-Zeitung 1895. No. 6 und 7.

2) Centralbl. f. Bakteriologie. II. Abt. Bd. I. p. 16. Eine zweite Mitteilung desselben Forschers Ebenda. p. 326.

3) Ebenda. p. 65.

4) Centralbl. f. Bakteriologie. II. Abt. Bd. I. p. 619.

5) Ebenda. p. 777. Bd. II. p. 185.

6) Ebenda. Bd. II. p. 301.

7) Comptes rendus. T. CXXI. No. 25. 1895.

8) Annales de l'Institut Pasteur. T. XI. 1897. p. 264.

9) Comptes rendus. T. LXXIX; 1869. p. 466. T. LXXI. p. 1203. auch T. LXXIX. p. 1006.

10) Landwirtsch. Jahrbücher. Bd. 1876. V. p. 281.

11) Berichte der Deutsch. bot. Gesell. 1886.

12) Nach O. Emmerling soll eine durch gewisse Schimmelpilze bei Abwesenheit von Sauerstoff hervorgerufene Alkoholgärung der Hefegärung analog sein (Berichte d. Deutsch. chem. Gesellsch. 1897. No. 4.) Zu den nämlichen Resultat ist auch Growleski gekommen. (Apotheker-Zeitung. 1897. p. 717).

haben mehrere Forscher, wie schon erwähnt, die Ansicht ausgesprochen, daß die Hefe aus der Luft stamme. Doch sind besondere Untersuchungen über diesen Punkt noch von Niemand bekannt geworden. Neuerdings soll es Yabe[1]) und Okamura[2]) zwar gelungen sein, sowohl aus der Luft im Gär- und Kojikeller wie aus Strohmatten die echten Sakehefen zu isolieren. Doch sind die Versuche nach unserem Dafürhalten nicht in der Ausdehnung ausgeführt, die zur endgiltigen Erledigung dieser Frage notwendig ist. Außer dieser harren auf dem Gebiete der Sakeindustrie noch manche andere Fragen ihrer Erledigung. Vor allem sind die Sakehefen in ihren morphologischen sowohl, als in ihren physiologischen Eigenschaften noch fast gar nicht untersucht worden. Ferner ist das Koji, das Ausgangsmaterial der Sakeherstellung, vom mykologischen Gesichtspunkt aus noch gar nicht berührt worden. Endlich ist die wichtige Frage nach der Einführung reiner Hefe, die nach den auf verschiedenen anderen Gebieten der Gärungsindustrie gemachten Erfahrungen zu schließen, wahrscheinlich bei der Sakebrauerei die vorteilhafteste Verwendung finden kann, gänzlich außer acht gelassen.

Unter diesen Umständen entschloß ich mich, eingehendere Versuche in den angegebenen Richtungen vorzunehmen. Da ich aber wegen meines langjährigen Aufenthalts in Europa nicht in der Lage war, die Versuche in der dabei notwendigen Ausdehnung auszuführen, so verfüge ich zur Zeit über ein nur beschränktes Material, das aber immerhin imstande ist, ein Streiflicht auf die oben erwähnten Fragen zu werfen. Ich teile deshalb die bis jetzt erzielten Ergebnisse in der Absicht mit, die vorhandenen Lücken durch spätere Untersuchungen auszufüllen. Dabei möchte ich nicht unterlassen, meinen hochverehrten ehemaligen Lehrer und Chef, Herrn Hofrat Prof. Dr. O. Kellner, für seine liebenswürdige Unterstützung bei dieser Arbeit meinen aufrichtigen Dank auszusprechen. Ebenso bin ich meinem hochverehrten ehemaligen Lehrer, Herrn Prof. Dr. P. Lindner, in dessen Laboratorium ich eine Zeitlang gearbeitet habe, für seine wertvollen Ratschläge zum größten Danke verpflichtet.

Vor der Darlegung der eigenen Untersuchungsergebnisse erscheint es erforderlich, auf die Technik der Sakeherstellung nochmals zurückzukommen, und zwar teils deswegen, weil in der bisher vorhandenen einschlägigen Litteratur manche wichtige Punkte unberücksichtigt geblieben sind, und teils deswegen, weil die Bekanntschaft des Lesers mit dieser Technik uns mancher Erklärung und Zwischenbemerkung entheben wird.

I. Technik der Sakeherstellung.

Das ganze Verfahren der Sakeherstellung gliedert sich in folgende 4 Stufen:

1) Die Bereitung des Koji (des Pilz-Malzes);
2) die Darstellung des Moto (der Hefe);
3) der Hauptprozeß (die eigentliche Gärung);
4) das Pressen, Klären und Pasteurisieren.

---

1) Bulletin. Vol. III. No. 3. Imperial University Tokyo.
2) Ebenda.

1. Die Bereitung des Koji.

Das Koji ist das Ausgangsmaterial für die Sakeherstellung und spielt dabei etwa die gleiche Rolle, wie das Malz bei der Spiritusfabrikation. Es besitzt nämlich auch die Fähigkeit, die Stärke des Rohstoffs in vergärbaren Zucker umzuwandeln, und zwar durch Vermittelung eines diastatischen Enzyms, das aber nicht wie beim Malz durch die Lebensthätigkeit der Getreidekörner, sondern durch den auf totem, gedämpftem Reis wachsenden „Aspergillus Oryzae“ erzeugt wird. Zweck und Ziel der Kojibereitung ist also nichts anderes, als die Erzeugung von möglichst viel Diastase.

Die erste Operation, welcher der entspelzte Reis [1]) unterworfen wird, ist der Schälungsprozeß. Dieser wird gewöhnlich in hölzernen oder steinernen Trögen vorgenommen, in welchem der Reis mit einem hölzernen Stößer, entweder durch Menschen- oder durch Wasserkraft, so lange bearbeitet wird, bis die Fruchthaut sowohl, wie auch der Keim von dem Mehlkörper des Kornes vollständig getrennt sind. Darauf wird der Reis von Bruch und Kleie befreit und in einem Holzbottich in kaltem Wasser unter wiederholter Erneuerung desselben gut gewaschen. Alle diese Manipulationen, bei welchen der gesamte Verlust des Reises an Trockensubstanz nach O. Kellner [2]) sich auf 5,4 Proz. beläuft, bezwecken, die an Fett und Proteïnstoffen reiche Kleie [3]) vollständig zu entfernen, die dem Getränk einen ranzigen Geruch und herben Geschmack zu verleihen vermag.

Der so polierte und gewaschene Reis wird nun in einen hölzernen Weichkasten gebracht und in kaltem Wasser je nach der Temperatur des Weichwassers und der Beschaffenheit des Reises 10—18 Stunden lang eingeweicht. Dann wird der Reis nochmals mit kaltem Wasser begossen und dem Dämpfen ausgesetzt. Dies geschieht in einem großen hölzernen Dampffaß, das in der Mitte des Bodens mit einem runden Loche versehen ist. Dieses Loch wird mit einem dicken hölzernen Brettchen von obenher bedeckt. Die in der unteren Fläche des Brettchens eingeschnittenen, diametral gekreuzten tiefen Furchen stellen eine freie Kommunikation zwischen dem Dampffaß und einem eisernen Dampfkessel her, auf welchen das mit Reis gefüllte Faß gestellt ist. Das Wasser wird nun im Kessel gekocht und die Dämpfe strömen durch den Reis, welcher in der Regel etwa 4—5 Stunden nach den Sieden des Wassers so weich wird, daß er sich leicht zu hornartig aussehendem Teig kneten läßt. Zeigt der Reis solche Beschaffenheit, so wird das Dämpfen eingestellt. Der gedämpfte Reis wird dann auf reinen Strohmatten ausgebreitet und mit einer Art Harke wiederholt bearbeitet. Ist der Reis handwarm geworden (27—32° C), so wird er schleunigst in den Kojikeller getragen, auf einem in der Mitte des Raumes stehenden, mit

1) Zur Koji- resp. Sakebereitung benützt man in der Regel nur den gewöhnlichen Sumpfreis.

2) Bulletin Imp. College of Agriculture. No. 5. p. 6.

3) Nach O. Kellner (Ebendaselbst: p. 4) enthält die Reiskleie in der Trockensubstanz:

Wasser	Rohproteïn	Rohfett
12,5	17,3	21,9

Reisspelzen gefüllten Bette in Quantitäten von 1—2 Hektolitern aufgehäuft und mit Strohmatten sorgfältig bedeckt. Dies bezweckt neben der Aufrechterhaltung der Kellertemperatur eine gleichmäßige Verteilung der Feuchtigkeit durch den ganzen Reishaufen. Nach 5—6 stündigem Stehen wird der Reis mit Samenkoji [1]) versetzt, und zwar nicht auf einmal, sondern gewöhnlich zweimal nacheinander. Zu diesem Zwecke pflegt man das Samenkoji zunächst mit einer Handvoll Reis gut zu vermischen um dann diese Mischung über den übrigen Reis zu verteilen, indem man diesen tüchtig reibt. Der so infizierte Reis wird dann wieder in Haufen gelegt, mit Strohmatten bedeckt und wie vorher stehen gelassen. Nach weiteren 3 Stunden wird der Rest des Samenkoji in der gleichen Weise wie vorher dem Reis zugesetzt. Wenn die Entwickelung des Kojipilzes auf den Reiskörnern sich durch kleine, weiße, aus Mycelfäden bestehende Pünktchen bemerklich macht, so wird der Reis ohne Verzug in Mengen von etwa 2 Litern auf kleine, mit Randleisten versehene Brettchen verteilt, da sonst die infolge der starken Atmung des Pilzes entstehende Kohlensäure und Wärme leicht die Entwickelung desselben beeinträchtigen. Die so mit Reis gefüllten Brettchen werden gleich auf die im Raum umlaufenden Simse in Schichten von 7 Stück nebeneinander gelegt und mit Strohmatten bedeckt. Von dieser Zeit an schreitet die Entwickelung des Pilzes in einem immer schnelleren Tempo vorwärts. Es findet eine intensive Atmung des Pilzes statt, die ihrerseits eine starke Entwickelung von Kohlensäure und Wärme zur Folge hat [2]). Zur Entfernung von Kohlensäure und zur Regulierung der Kellertemperatur bedient man sich eines sowohl an der Eingangsthür wie auch am Dach befindlichen, mit einer gut schließenden Klappe versehenen Ventilationsloches, das ganz nach Bedarf geöffnet oder geschlossen werden kann. Um auch die Anhäufung der Kohlensäure und gleichzeitig eine übermäßige Temperatursteigerung in den Reishäufchen zu vermeiden, pflegt man den Reis nach 3—4 stündigem Stehen mit den Händen durchzuarbeiten und dann wieder wie vorher liegen zu lassen, wobei man Sorge dafür trägt, die Masse aus der Mitte der Schicht, wo eine größere Wärme herrscht, nach oben oder unten zu bringen. Um ein gesundes Koji zu erzeugen, geht der Praktiker darauf aus, die Temperatur im Reise nicht mehrere Grade über 40 ⁰ C steigen zu lassen. Dabei pflegt er aber, wie auch sonst bei anderen Arbeiten, die Hand als Thermometer zu benutzen, was, wenn auch selten, zu verhängnisvollen Täuschungen führt. Das Durcharbeiten des Reishäufchens wird noch zweimal in Intervallen von 8—10 Stunden wiederholt. Etwa 40 Stunden nach dem Versetzen der Sporen mit Reis über-

---

1) Das Samenkoji ist nichts anderes als das dicht mit Sporen besetzte Koji.

2) Nach Untersuchungen von O. Kellner, Mori und Nagaoka (a. a. O.) beläuft sich der Verlust des Reises an Trockensubstanz bei seiner Umwandelung im Koji auf 13 Proz., hauptsächlich Stärke. Diese Zahl ist für das eigentliche Sakekoji etwas zu hoch, da die Entwickelung des Pilzes eher unterbrochen wird, als es bei anderen Kojisorten der Fall ist. Nimmt man nun an, daß der Trockensubstanzverlust nur 10 Proz. beträgt und dabei bloß Stärke verbrannt wird, und daß ferner 100 Kilo Reistrockensubstanz in Koji umgewandelt werden, so ergiebt sich, daß 16,3 Kilo CO_2 und 44 790 000 Kalorien in Freiheit gesetzt werden, wobei 5,56 Kilo Wasser sich neu bilden.

ziehen sich die Körner mit Mycelfäden. Ist dies eingetreten, so betrachtet man das Koji als reif und befördert es ohne Verzug aus dem Keller in einen gut ventilierten kalten Raum. In der Regel kommt das so hergestellte Koji am folgenden Tage zur Verwendung, es muß also stets in entsprechender Zeit mit seiner Herstellung begonnen werden.

2) Die Darstellung des Moto.

Die Bereitung des Moto gilt als der schwierigste Teil der Sakeherstellung und wird oft mit einer argen Geheimniskrämerei umgeben. Sie besteht im wesentlichen darin, diejenigen Hefezellen zur Vermehrung zu bringen, die im Koji, und, wie schon erwähnt, nach Yabe und Okamura auch in der Luft und auf den Strohmatten der Brauerei regelmäßig anzutreffen sind. Der Prozeß läßt sich in 2 Stadien einteilen.

Im ersten Stadium, in welchem die Verzuckerung der Maische im wesentlichen stattfindet, werden in der Regel zunächst 5 to [1]) gedämpfter Reis und 6 to Wasser in 8 niedrige Gefäße zu gleichen Teilen verteilt und einige Stunden stehen gelassen. Darauf werden 2 to [2]) Koji ebenfalls in zwei gleichen Teilen zugegeben. Nach 3—4 Stunden beginnt man die Masse tüchtig durchzuarbeiten, und zwar erst mit einem Rührscheit und dann mit der Hand. Diese Operation wird alle 2 Stunden wiederholt. Allmählich dringt das Wasser in die Reiskörner ein, und so entsteht nach 10—15 Stunden ein dicker Brei, der dann ebenfalls alle 2 Stunden, aber noch viel kräftiger als vorher durchgearbeitet wird. Während dieses Prozesses bleibt die Temperatur der Maische sehr niedrig und schwankt in den Grenzen von 0 bis 10° C. Infolgedessen schreitet der Verzuckerungsprozeß sehr langsam vorwärts, und erst am 2. oder 3. Tag wird die Maische einigermaßen dünnflüssig. Jetzt fängt man an, die so gewonnene Maische allmählich zu vereinigen, und zwar in der Weise, daß am 4. oder 5. Tage die ganze Maische sich in einem kleinen Gärbottich befindet. In diesem Stadium findet man, daß eine wahrnehmbare, wenn auch noch sehr schwache Alkoholgärung im Gange ist. Die während der Verzuckerung spontan eingetretene Milchsäuregärung hat wesentlich dazu beigetragen, den Wettkampf, der zwischen den in der Maische zahlreich vorhandenen niedrigen Lebewesen — Schimmelpilzen, Bakterien und Hefen — entstanden ist, zu Gunsten der Hefe zu entscheiden.

Um nun durch ein künstliches Mittel die Vermehrung der Hefe zu beschleunigen, pflegt man die Maische nach 1-tägigem Stehen in den oben erwähnten Gärbottich tüchtig zu erwärmen und zu lüften (das zweite Stadium). Hierbei bedient man sich eines mit kochendem Wasser gefüllten, kegelförmigen Fäßchens. Dieses Fäßchen wird in die Maische völlig eingetaucht, und darin in der 1. Stunde 2 mal, in der 2. 1 mal, dann in 2 Stunden 7 mal u. s. w. immer weniger häufig mit großer Anstrengung hin- und her-, ab- und aufgeschoben. Je nach dem Er-

---

1) 1 to = 18,093 Liter.

2) Die für Koji angegebene Zahl bezieht sich auf den Volumenteil Reis, der in Koji umgewandelt wurde.

fordernis wird das Fäßchen täglich 1—2 mal durch ein neues ersetzt. Durch diese Erwärmung und Lüftung begünstigt, findet eine kräftige Vermehrung der Hefe statt. Infolgedessen macht sich die Gärung immer bemerklicher, und am 3. Tage nach der Erwärmung überzieht sich die ganze Oberfläche der Maische mit einer dicht gedrängten Schaumdecke. Von dieser Zeit ab verläuft die Gärung in immer schnellerem Tempo, die Schaumdecke nimmt an Umfang zu und erreicht in einigen Tagen eine Höhe von 25—30 cm. Wenn die Gärung noch weiter vorwärts schreitet, so verschmelzen kleine Kohlensäurebläschen zu größeren, da die Viscosität der Maische geringer und die Gärbewegung stärker wird. Eiergroße, durch mitgerissene Hefe getrübte Kohlensäurebläschen folgen einander rasch und zerplatzen mit klatschendem Geräusch. Die Gärung hat jetzt ihren höchsten Punkt erreicht, wobei die Temperatur bis auf 36 ^{0} C steigt. In diesem Stadium pflegt man die künstliche Erwärmung mit größter Vorsicht vorzunehmen, da die Temperatur der Maische sonst sehr leicht zu hoch steigt und so nicht nur die Vermehrung der Hefe verlangsamt, sondern auch deren Lebenskraft geschädigt wird. Der Praktiker richtet daher sein Augenmerk darauf, daß die Temperatur nicht wesentlich über 35 ^{0} C steigt. Er stellt deshalb die künstliche Erwärmung sofort ein, wenn die durch die Gärung selbst erzeugte Wärme hinreicht, um die Maische auf richtiger Temperatur zu erhalten.

Nachdem die stürmische Gärung vorüber ist, läßt man die Maische noch einige Tage weiter gären. Um nun den Zeitpunkt zu ermitteln, an dem die Gärung unterbrochen werden muß, fährt man einfach mit dem Finger längs durch die Schaumdecke. Wird der Strich, den der Finger hinterläßt, sofort von den aufsteigenden Kohlensäurebläschen ausgefüllt, so läßt man die Maische noch weiter gären. Bleibt die Spur dagegen eine Zeitlang frei, so verteilt man die noch langsam gärende Maische auf mehrere niedrige Gefäße und läßt sie abkühlen. Hat die Maische die Lufttemperatur angenommen, so wird sie in einem größeren Gefäß wieder vereinigt und in einem kalten Zimmer zu späterem Gebrauch aufbewahrt. Der ganze Prozeß der Motodarstellung dauert in der Regel 18 Tage. Man hält es für absolut notwendig, das Moto einen solchen Zeitraum hindurch reifen zu lassen. Das so hergestellte Moto enthält neben geringen Mengen von Zucker 8—12 Proz. Alkohol und 0,5—0,8 Proz. freie organische Säuren.

3. Der Hauptprozeß.

Hat man im Koji die Diastase zur Verzuckerung der Maische und im Moto die Hefe zur Einleitung der alkoholischen Gärung gewonnen, so schreitet man zur eigentlichen Sakeherstellung. Im allgemeinen läßt sich der Prozeß in 3 Stadien einteilen, die man als Soje (Anfang), Naka (Mitte) und Schimai (Ende) zu bezeichnen pflegt.

Im ersten Stadium vermischt man in einem Gärbottich die ganze Menge Moto unter kräftigem Umrühren mit 11 to Wasser und 4 to Koji[1]). Darauf wird der Gärbottich mit Strohmatten umhüllt und

1) Die Mengenverhältnisse des zuzusetzenden Reises, Koji und Wassers wechseln in jeder Sakebrauerei etwas.

ruhig stehen gelassen. Nach etwa 10—15 Stunden, wenn eine Kohlensäureentwickelung sich in der Maische bemerkbar macht, werden 11 t gedämpfter Reis zugefügt. Die Temperatur des zuzusetzenden Reises schwankt zwischen 10 und 60° C und wird je nach der Lufttemperatur, der Lage des Gärraumes und der Beschaffenheit des Moto so reguliert, daß die Gärung möglichst glatt von statten geht.

Nach dem Zusatz von Reis wird die Maische alle 2 Stunden mit einem Rührscheit tüchtig umgerührt. Die Gärung gewinnt mehr und mehr an Lebhaftigkeit. Bevor sie aber ihren höchsten Punkt erreicht, findet ein zweiter Zusatz von Reis, Koji und Wasser statt (das zweite Stadium).

Zu diesem Zwecke rührt man die gärende Maische kräftig um, schöpft die eine Hälfte davon in einen anderen Gärbottich über und fügt jedem von beiden 10 to gedämpften und abgekühlten Reis, 3 to Koji und 13 to Wasser zu. Dann läßt man die Maische unter zeitweiligem Umrühren $1—1^1/_2$ Tage gären.

Am 5. oder 6. Tage, wenn die Gärung der Maische wieder an Kraft zuzunehmen beginnt, findet ein dritter und letzter Zusatz von Reis, Koji und Wasser statt (das dritte Stadium). Hierbei geht man nun wiederum mit der Verteilung der Maische in der Weise vor, daß von jedem Bottich die eine Hälfte der Maische in einen größeren Gärbottich gebracht wird. In jeden kleineren Bottich der ein Viertel der ganzen Maische enthält, bringt man 10 to gedämpften Reis, 3 to Koji und 14 to Wasser, während der größere Gärbottich die entsprechende, d. h. die doppelte Menge von Zusatz erhält. In diesem Zustande wird die Maische unter zeitweiligem Umrühren der Gärung überlassen. Wenn die Gärung an Lebhaftigkeit zuzunehmen beginnt, so schickt man sich an, die geteilten Maischen wieder zu vereinigen. Die Zeit, zu der diese Wiedervereinigung geschieht, sucht man so einzurichten, daß die Gärung allmählich an Kraft wieder gewinnt. Bestimmte Regeln hierfür kann man deshalb nicht geben. Im allgemeinen aber schöpft man am 9. oder 10. Tage die Maische des einen kleineren Bottichs und 1—2 Tage später die des anderen in den größeren Bottich über, so daß dieser jetzt die ganze Maische enthält. Hier stellt sich die eigentliche Hauptgärung allmählich ein, wobei die Temperatur bis auf 25° C und darüber steigt. Ist die Gärung endlich zum Stillstand gekommen, so beginnt man ohne Verzug mit dem Pressen. Der eben beschriebene Hauptprozeß dauert im allgemeinen 20—25 Tage.

4. Das Pressen, Klären und Pasteurisieren.

Um den Sake von den Trebern möglichst vollständig zu trennen, muß die vergorene Maische einer entsprechenden Pressung unterworfen werden. Zu diesem Zweck wird die Maische in dichte, mit dem gerbsäurereichen Saft der unreifen Dattelpflaume (Diospyros Kaki) getränkte Beutel gefüllt, letztere am offenen Ende umgeschlagen und in einen starken hölzernen Preßkasten gebracht. Ist der Kasten, der 300—800 solche Beutel faßt, endlich gefüllt, so legt man eine dicke Bohle auf den Beutelhaufen auf. Eine fast klare Flüssigkeit läuft nun durch eine dicht am Boden des Kastens befindliche, siebartige Oeffnung in ein in die Erde eingegrabenes, großes

Thongefäß ab. In dem Maße, wie der Beutelhaufen niedersinkt, legt man eine zweite, kleinere Bohle auf, und auf diese folgen noch mehrere, immer kleinere. Fließt nicht mehr genügend Sake ab, so fängt man an, die Beutel einer weiteren starken Pressung zu unterwerfen. Dies geschieht vermittelst eines quer über dem Preßkasten liegenden Druckbaumes, dessen Ende durch einen starken Riegel an einer Säule beweglich befestigt ist. Zum Zwecke des Pressens werden schwere Steine mittels starker Strohseile nach und nach am freien Ende des Druckbaumes angehängt, so daß schließlich ein Druck von etwa 7000—8000 Kilo auf den Beutelhaufen ausgeübt wird. Nach etwa 10—12 Stunden werden die Steine abgenommen, die Beutel umgelegt und abermals gepreßt. Der auf diese Weise gewonnene Preßrückstand enthält außer viel Stärke etwa 50 Proz. Wasser und 5—6 Proz. Alkohol, und wird hauptsächlich mittels Destillation auf Alkohol verarbeitet.

Der ausgepreßte Sake wird darauf alsbald in einen großen Klärbottich übergeschöpft, gut bedeckt und in einem kalten Raum aufbewahrt. Zum besseren Verschluß des Deckels pflegt man etwa vorhandene Ritzen mit Papier zu verkleben. Nach einem 5—6-tägigen Stehen, währenddessen eine schwache Nachgärung stattfindet, fängt man an, aus einem etwa 20 cm über dem Boden des Bottichs befindlichen Spundloch täglich 1—2 mal etwa 10 Liter Sake abzuziehen, was das Klären bedeutend beschleunigen soll. Der so abgezogene Sake wird gewöhnlich einer abermaligen Klärung unterworfen. Wenn endlich die beim Auspressen mitgerissenen festen Körper, darunter auch Hefezellen, sich zu Boden gesetzt haben, so wird der Sake aus dem oben erwähnten Spundloch abgezogen und entweder zum sofortigen Konsum in Versandfässer gefüllt, oder, wie es meist der Fall ist, zum Lagern in einen großen, aufs sorgfältigste gereinigten Bottich gebracht. Der im Klärbottich noch zurückbleibende trübe Sake wird aus dem dicht am Boden befindlichen Spundloch abgezogen und zur abermaligen Auspressung mit frisch vergorener Maische vermischt.

Im Lagerbottich, der in schon erwähnter Weise dicht verschlossen wird, geht eine schwache Nachgärung vor sich, und infolgedessen tritt eine geruchlich und geschmacklich wahrnehmbare Qualitätsverbesserung des Sake ein. Der Sake läßt sich aber in diesem Zustande nicht lange aufbewahren, sondern ist der Gefahr ausgesetzt, umzuschlagen, besonders wenn dauernd warmes Wetter eintritt. Um diesem Uebelstand vorzubeugen, pflegt man den Sake schon Ende April in der Weise zu erhitzen, daß man ihn in einen großen eisernen Kessel überführt und ganz langsam bis auf 50—55 ° C erwärmt. Ist diese Temperatur erreicht, so rührt man den Sake mit einem Rührscheit um, nimmt den auf der Oberfläche schwimmenden Schaum mit einem feinen Sieb ab, und schöpft den heißen Sake in einen aufs sorgfältigste gereinigten, meistens aus dem Holz der *Cryptomeria japonica* hergestellten Lagerbottich über, welchen man mit einem gut schließenden Deckel versieht und an der Verbindungsstelle am Bottich mit Papier verklebt. Im günstigen Falle läßt sich der so pasteurisierte Sake ohne weiteres bis zum Frühjahr des folgenden Jahres aufbewahren. In den meisten Fällen droht der Sake während

des Sommers umzuschlagen und bedarf daher eines wiederholten Pasteurisierens, wobei der naive Brauer den erhitzten Sake in den ursprünglichen mit Milliarden von schädlichen Lebewesen beladenen Lagerbottich zurückzubringen pflegt. Das wiederholte Pasteurisieren nimmt aber nicht nur Arbeit und Zeit in Anspruch, sondern beeinflußt auch Geruch und Geschmack des Sake in ungünstiger Weise. Der Sake erhält nämlich dadurch neben einer unbeliebten dunklen Farbe einen unangenehmen Beigeschmack, den sogenannten Kochgeschmack, der nicht mehr fortzubringen ist. Man wendet deshalb seit ca. 20 Jahren mit Vorliebe ein anderes Hilfsmittel, die Salicylsäure an, deren nachteiliger Einfluß auf den menschlichen Körper aber bei täglichem Genuß auch in geringen Dosen von kompetenter Seite festgestellt worden ist.

II. Die Pilzflora der Kojikörner.

Wirft man einen Blick auf den Prozeß der Kojiherstellung, so erkennt man ohne weiteres, daß der Reis dabei vielfach der Infektion ausgesetzt ist. Zunächst stellt das Samenkoji, mit dem der Reis versetzt wird, keineswegs reine Sporen des Kojipilzes dar, sondern ist mit Fremdorganismen mehr oder minder stark behaftet. Ferner wird den Mikroorganismen der Luft bezw. unsauberer Strohmatten, Gefäße und Hände reichliche Gelegenheit geboten, sich auf den Reiskörnern anzusiedeln und zu entwickeln. Um dies zu erkennen, braucht man nur eine Plattenkultur von frisch bereitetem Koji herzustellen. Es kommen dann außer dem Kojipilze noch Hefen, Schimmelpilze und Bakterien mehr oder weniger zur Entwickelung. Unter diesem Heer von Lebewesen findet sich zwar, wie nähere Untersuchungen uns überzeugten, ein höchst nützlicher Organismus, die Sakehefe, vor, die meisten anderen sind jedoch mehr oder weniger heftige Feinde der Hefe und damit auch der Sakegärung, und vermögen, wenn sie in die Maische gelangen, nicht nur Geruch und Geschmack des Sake zu beeinträchtigen, sondern auch Gärungsstörungen, oft der schwersten Art, im Betriebe hervorzubringen.

Es ist deshalb von großer Wichtigkeit, auf dem Gebiete der Sakebrauerei die auf den Kojikörnern vorkommenden Mikroorganismen sowohl in morphologischer als auch in physiologischer Richtung kennen zu lernen.

Im Folgenden teilen wir die Ergebnisse der von uns in dieser Richtung bis jetzt ausgeführten Untersuchungen mit, wobei wir uns auf die bei Schimmel- und Sproßpilzen gemachten Beobachtungen beschränken, da unsere Versuche über das Vorkommen der Bakterienarten im Koji noch nicht genügend zahlreich sind, um sichere Schlüsse zu gestatten.

1. Schimmelpilze.

a) Aspergillus Oryzae.

Da der Kojipilz, wie schon erwähnt, von verschiedenen Seiten sowohl morphologisch als auch physiologisch eingehend untersucht worden ist, so haben wir nur einige Versuche über seine Enzymwirkung vorgenommen.

1) Verhalten gegen verschiedene Kohlehydrate. Das Verhalten des Kojienzyms wurde, wie schon erwähnt, von O. Kellner und seinen Mitarbeitern eingehend studiert. Da das von diesen Forschern bei ihrer Untersuchung benutzte Material, d. h. das Koji, sehr häufig verschiedenartige Fremdorganismen beherbergt, die diastatische oder invertierende Enzyme abzusondern vermögen, so haben wir mit dem aus einer Spore herangezüchteten Pilze einen einfachen Versuch vorgenommen, um das Endprodukt der Einwirkung des Kojienzyms auf verschiedene Kohlehydrate festzustellen. Zu diesem Zwecke haben wir den Pilz zunächst nach der Lindnerschen Tröpfchenkultur[1]) reingezüchtet und ihn weiter in Bierwürze kultiviert. Nachdem eine genügende Menge von Pilzmasse entstanden war, wurde dieselbe nach gründlichem Waschen mit sterilem Wasser, um sie von dem im Innern der Zellen enthaltenen Zucker zu befreien, in einer kohlehydratfreien Nährlösung 4 Tage lang bei 25 bis 27° C gezüchtet. Darauf wurde die Pilzmasse mit einem sterilisierten Messer in kleine Stücke geschnitten und auf eine Anzahl mit verschiedenen Kohlehydratlösungen gefüllte Gärungskölbchen verteilt. Jedes Kölbchen wurde dann mit etwa $^1/_2$ g einer Reinkultur des „Saccharomyces apiculatus“ (Rees) beschickt, in den Brütschrank gebracht und nach 24 Stunden beobachtet.

Es ergab sich Folgendes:

Natur der Kohlehydrate	Gasentwickelung
Lösliche Stärke[2])	+
Inulin	—
Dextrin	+
Melitriose	+
Saccharose	+
Maltose	+
Laktose	—

+ = Gasentwickelung, — = keine Gasentwickelung.

Da der „Saccharomyces apiculatus“ (Rees) nur Glukose zu vergären vermag, so dürfen wir aus den vorstehenden Ergebnissen mit Sicherheit den Schluß ziehen, daß das Kojienzym aus Stärke, Dextrin, Melitriose, Saccharose und Maltose Glukose bildet, Inulin und Laktose dagegen unverändert läßt. Dieses Resultat steht mit dem von O. Kellner und seinen Mitarbeitern ermittelten in völligem Einklange.

2) Verhalten gegen Aethylalkohol. Um einen Anhaltspunkt für die Beurteilung der Wirkung des Kojienzyms bei der Sakeherstellung zu gewinnen, haben wir den Einfluß des Aethylalkohols auf die diastatische Wirkung des Kojipilzes untersucht. Zu diesem Zwecke haben wir eine Anzahl von 100 ccm-Kölbchen zuerst je mit 50 ccm einer 2-proz. Stärkelösung, dann mit verschiedenen Mengen Alkohol von bekanntem Prozentgehalt und schließlich mit 5 ccm einer aus dem rein gezüchteten Pilzrasen hergestellten Enzymlösung beschickt. Nachdem die Kölbchen mit Wasser genau auf 100 ccm angefüllt worden waren, wurden sie 15 Stunden lang bei Zimmer-

---

1) Lindner, P., Mikroskopische Betriebskontrolle in den Gärungsgewerben. 2. Aufl. Berlin 1898.

2) Nach Lintner's Vorschrift hergestellt. (Journal f. prakt. Chemie. 1886, p. 378.)

temperatur stehen gelassen. Darauf wurde der Inhalt der Kölbchen, um einer weiteren Wirkung des Enzyms Einhalt zu thun, in Porzellanschalen ausgegossen, zum Kochen gebracht, wieder mit Wasser zu 100 ccm nachgefüllt und auf seinen Gehalt an reduzierendem Zucker nach der Allihn'schen Methode geprüft.

Die folgende Tabelle zeigt die so erzielten Resultate:

Gewichtsprozent des Aethylalkohols	Menge des gebildeten Zuckers (als Glukose)	Relativwirksamkeit des Enzyms
—	0,4059	100
2	0,3800	82
4	0,3629	78
6	0,3265	70
8	0,2640	57
10	0,2311	50
12	0,1985	43
14	0,1759	38
16	0,1312	28
18	0,1056	23
20	0,096	20
24	0,060	13
28	0,003	1
32	—	—

Hieraus ersehen wir, daß der Aethylalkohol auf das Kojienzym schädlich einwirkt. Schon ein Gehalt von 2 Proz. Alkohol ist imstande, die Wirkung des Enzyms um etwa 20 Proz. herabzusetzen. Eine vollständige Sistierung der Enzymwirkung tritt aber erst ein, wenn der Alkoholgehalt über 28 Proz. steigt. Es unterliegt danach kaum einem Zweifel, daß das Kojienzym während des ganzen Prozesses der Sakeherstellung in Thätigkeit bleibt, denn der Alkoholgehalt der Sake beträgt niemals über 18 Proz.

b) Ein weißer Schimmelpilz.

In manchen Kojiproben sind wir einem weißen Schimmelpilze sehr zahlreich begegnet, der in morphologischer sowohl als auch in kultureller Hinsicht mit der von Lindner beschriebenen „Sachisia suaveolens" eine große Aehnlichkeit zeigt. In der Würze-Tröpfchenkultur wächst der Pilz in länglicher Form, verzweigt sich dann und schnürt eine Anzahl von hefeähnlichen Zellen ab. Gleichzeitig bilden sich in den Fäden mehrere Querwände, und schließlich fallen die einzelnen Gliederzellen auseinander, so daß man jetzt lauter hefeähnliche Zellen vor sich hat.

Auf festen Substraten, z. B. auf Hefewasser- oder Würzegelatineplatten, wächst der Pilz zu einer prachtvoll strahlenförmigen Mycelkolonie an, die an die des „Oidium lactis" erinnert. Auf dicker Gelatineschicht entstehen Riesenkolonieen von strahliger Anordnung und seidenartigem Glanze. Die Verflüssigung der Gelatine tritt schnell ein.

In Bierwürze eingesät, findet eine ziemlich schnelle und kräftige Entwickelung des Organismus statt und nach einigen Tagen tritt eine schwache Gärung ein, wobei sich kein Bouquet entwickelt. Der Pilz vergärt nach vorläufig orientierenden Versuchen Saccharose, Raffinose, Dextrose, Fruktose und Maltose, nicht Trehalose, Rhamnose, Laktose und Melezitose. Bemerkt sei dabei gleich, daß die Gärkraft des Pilzes überhaupt eine sehr unbedeutende ist.

Die oben beschriebenen morphologischen Eigenschaften dieses Pilzes legen den Gedanken nahe, daß die verschiedenen Forscher, welche die Umbildung des Kojipilzes in einen Saccharomyceten beobachtet haben wollen, nicht den letzteren, sondern den vorliegenden Pilz vor sich gehabt haben, da die von Korschelt, Juhler, Sorel u. A. geschilderte vermeintliche Querwandbildung und Hefeabschnürung des Kojipilzes an die dieses Pilzes erinnern.

c) Andere Schimmelpilze.

Unter den anderen Schimmelpilzen, die im Koji vorzukommen pflegen, ist der grüne Pinselschimmel, Penicillium glaucum, zu verzeichnen. Häufig kommt auch Mucor stolonifer vor. Diese beiden Pilze sind zu allgemein bekannt, als daß hier näher auf dieselben einzugehen wäre.

2) Sproßpilze.

a) Sakehefe.

Im Koji wird, wie schon erwähnt, in der Regel eine Hefeart angetroffen, die sich bei näherer Untersuchung als sehr gärkräftig erweist. Es ist die Sakehefe, die sich bei der Motoherstellung entwickelt und die Sakegärung durchführt. Ihre wichtigsten Eigenschaften sind kurz folgende:

1) Form und Größe. Die Zellen sind im allgemeinen kugelig, besitzen 6—12 μ Größe und weisen einen homogenen Inhalt auf. In älteren Kulturen finden sich, wenn auch sehr selten, die sogenannten Riesenzellen vor.

2) Verhalten in Tröpfchenkulturen (nach Lindner). Die Zellenproduktion ist eine eminente. Die jungen Zellen führen ein fast homogenes Plasma. Sie trennen sich frühzeitig von der Mutterzelle, so daß keine großen Sproßverbände entstehen. Nach 7—8 Tagen findet eine reichliche Sporenbildung statt.

3) Verhalten in der Tropfenkultur (nach Lindner). Die Hefeflocken nehmen infolge einer sehr geringen Klebkraft der Zellwände keine große Dimension an und sind deshalb auch von geringer Beständigkeit.

4) Wachstum der Riesenkolonie (nach Lindner). Im Glaskolben, dessen Boden mit einer dicken Würzegelatineschicht bekleidet ist, wächst die Hefe in kompakter Masse mit einer dem Impftropfen entsprechenden kraterförmigen Vertiefung auf der Krone. Von der Mitte nach den Randpartieen ziehen sich strahlige Ausläufer, die ihrerseits vielfache Verzweigungen aufweisen. Die unterste Schicht der Kolonie frißt in die Gelatine nicht ein.

5) Sporenbildung. Nach einem 24-stündigen Auffrischen in Bierwürze bei 25—27° C vermag die Hefe auf dem Gipsblocke frühzeitig Sporen zu bilden. Bei der Optimumtemperatur (30—32°) erscheinen die ersten deutlichen Sporenansätze schon nach 14, bei der Maximumtemperatur (40—41°) nach 36 Stunden und bei der Minimumtemperatur (3—4°) nach 15 Tagen. Die Sporen sind im allgemeinen stark lichtbrechend. Ihre Zahl schwankt zwischen 1 und 3 und geht nur sehr selten darüber hinaus.

6) Verhalten gegen verschiedene Zuckerarten. In dieser Beziehung bietet die Sakehefe auch nichts Auffälliges. Sie

vergärt Saccharose, Maltose, d-Mannose, d-Fruktose, Glukose und Methylglukosid sehr leicht, Trehalose und d-Galaktose etwas schwieriger, nicht Laktose und Rhamnose. Besondere Versuche ergaben, daß diese Hefe die Spaltung der Melitriose in Melibiose und Fruktose, dagegen keine Hydrolyse der Melibiose bewirkt. Sie muß deshalb in den obergärigen Typus eingereiht werden, da, wie Bau[1]), Fischer und Lindner[2]) gezeigt haben, die Oberhefen im Gegensatze zu den Unterhefen kein Enzym enthalten, das eine nennenswerte Spaltung der Melibiose bewirken kann.

7) Verhalten gegen höhere Temperaturen. Um die Widerstandsfähigkeit der Sakehefe gegen höhere Temperaturen festzustellen, wurde dieselbe nach einem 24-stündigen Auffrischen in Bierwürze in Verwendung gebracht. Es wurde jedesmal 1 Oese aus dem Bodensatze in frische, vorher im Wasserbade auf die gewünschte Temperatur erhitzte Würze übertragen. Nach Ablauf der Einwirkungszeit (stets 5 Minuten) wurden die Würzeröhrchen unter dem Strahle der Wasserleitung rasch abgekühlt und dann in den Brütschrank gebracht. Es ergab sich dabei, daß eine Temperatur von 60° C nach 5 Minuten die Sakehefe mit Sicherheit abtötete, während bei 55° C der Erfolg kein gleichmäßiger war[3]).

8) Verhalten gegen Eintrocknen. Die zwischen sterilem Filtrierpapier getrockneten vegetativen Zellen der Sakehefe waren nach 20 Monaten noch lebensfähig und zeigten in Bierwürze eine üppige Entwickelung.

b) Kahmhefen.

Von den 2 verschiedenen Kahmhefen, die regelmäßig im Koji vorkommen, gehört die eine zur Anomalus-Gruppe. Sie zeigt mit dem von Lindner[4]) aus Grünmalz gezüchteten „Saccharomyces anomalus" eine große Aehnlichkeit. Die Zellen sind meistens elliptisch und dünnwandig. In Tröpfchenkulturen bilden sie keine größeren Sproßverbände. Hier tritt in der Regel nach 5—6 Tagen eine reichliche Sporenbildung ein. Die Sporen sind hutförmig und gewöhnlich 2, seltener 3 in einer Zelle eingeschlossen. Auf den Würzegelatineplatten pflegt diese Anomalus-Hefe, wie die anderen hierzu gehörigen Arten, in die Höhe heranzuwachsen. In Bierwürze eingesät, scheint sie nur eine ganz unbedeutende Gärung hervorzurufen, erzeugt aber nach Bildung einer hellgrauen, faltigen Kahmhaut Fruchtäther.

Die andere, nicht sporenbildende Kahmhefe erzeugt in Würze auch Fruchtäther. Die Zellen sind rund oder elliptisch und schließen meistens 1—2 stark lichtbrechende Körnchen ein. Im Würzetröpfchen bilden sie keine großen Sproßverbände. In Würzegelatine wachsen sie in einer Pilzmasse mit herrlichem Faltenwurfe und puderartigem Belage.

---

1) Chemiker-Ztg. 1895. p. 1878.

2) Ber. d. deutsch. chem. Gesellsch. 1895. p. 3034.

3) Nach Nakamura soll die Sakehefe z. B. im Wasser oder in einer 10-proz. Saccharoselösung bei 50° C erst nach 30 Minuten absterben. (Bulletin. Vol. III. No. 3. College of Agriculture. Tokyo 1897.)

4) A. a. O.

c) Eine Torula-Hefe.

Die Zellen sind kugelig, 3—5 μ groß und mit wolkigem Protoplasma gefüllt. In fast jeder Zelle ist ein großer Fetttropfen sichtbar. Im Tröpfchen wächst sie nicht zu größeren Sproßverbänden. Die Riesenkolonie stellt eine gelblich-graue, schleimige Auflagerung dar. In Würze ruft diese Torula-Hefe eine schwache Gärung hervor. Es bildet sich ein schleimiger Bodensatz.

d) Eine rote Hefe.

Die Zellen sind fast kugelig und 6 μ im Durchmesser. In Würzegelatinestichkulturen entsteht längs des Stichkanals ein farbloser feiner Streifen. An der Einstichstelle zeigt sich eine schöne rote Auflagerung, die sich allmählich über die Gelatineoberfläche hin ausbreitet. Auf Kartoffeln bildet sich der Farbstoff am schönsten. Sporen wurden nicht beobachtet. Diese Hefe scheint mit der von Yabe[1]) aus frischem Reisstroh isolierten identisch zu sein.

III. Anwendung reiner Hefe bei der Sakeherstellung.

Wie wir experimentell festgestellt haben, findet sich auf Kojikörnern außer zwei höchst nützlichen Organismen, Kojipilz und Sakehefe, eine ganze Reihe von Organismen vor, die bei der Sakeherstellung mehr oder weniger Unheil zu stiften vermögen. Alle diese Lebewesen gelangen in die Motomaische und treten in einen Wettkampf ein. Wohl geht aus diesem die Hefe endlich als Sieger hervor, weil der Motowürze durch eine spontan eingetretene Milchsäuregärung, ferner durch Lüftung und Erwärmung die ihr günstigen Lebensbedingungen gegeben werden. Aber bis dieses Endergebnis erreicht ist, haben jene Lebewesen, die später unterdrückt werden, vielfach Gelegenheit, sich zu vermehren und so nicht nur eine Reihe von wertvollen Nährstoffen, besonders Zucker, sondern auch Stoffe zu bilden, die später mit in die Hauptmaische gelangen und dem Sake unangenehme Geruchs- und Geschmackseigenschaften erteilen. Dazu kommt ferner noch, daß diese unangenehmen Konkurrenten in dem Kampfe alle nicht gleich absterben, sondern ein latentes Leben führen, um bei günstiger Gelegenheit zu neuem Leben und Wirken zu erwachen. Um uns davon zu überzeugen, brauchen wir nur eine Plattenkultur von Moto herzustellen, dann treffen wir außer Sakehefen verschiedenartige Organismen, wie z. B. Kahmhefen, Essig- und Buttersäurebakterien, an, die in ihren Wirkungen für den Sake noch viel gefährlicher sind als jene unangenehmen Stoffwechselprodukte. Es ist also das Moto, das man mit Mühe und Kosten hergestellt hat, nichts anderes als eine Hefekultur, die nicht nur unangenehme pilzliche Stoffwechselprodukte enthält, sondern mit ungezählten schädlichen Keimen beladen ist.

Um nun die Hauptmaische herzustellen, versetzt man das stark infizierte Moto mit Reis, Koji und Wasser, die ihrerseits wieder eine ganze Reihe von Organismen mit sich führen, zwischen denen wiederum ein neuer Wettkampf beginnt. Hier können die Fremdorganismen ihr Unwesen nicht in einem so umfangreichen Maße treiben wie bei

1) Bulletin. Vol. III. No. 3. Imperial University College of Agriculture. Tokyo 1897.

der Motoherstellung, da die in großer Ueberzahl vorhandene Hefe bald nicht nur den Sauerstoffmangel, sondern auch das Auftreten der Kohlensäure und des Alkohols in der Maische zur Folge hat und so das fernere Gedeihen der Konkurrenten unmöglich macht. Die Lage der Dinge nimmt aber eine andere Wendung, wenn der Sake nach der Hauptgärung in den Klärbottich und darauf in den Lagerbottich gebracht wird. In diesem Stadium gehen die Hefezellen allmählich in den sogenannten Ruhestand über, die Kohlensäure entweicht dem Sake nach und nach und der Sauerstoff findet mehr oder weniger Eingang. Infolgedessen fangen verschiedene Organismen, so z. B. Essigbakterien und Kahmhefen, an, sich durch unangenehme Krankheitserscheinungen bemerkbar zu machen, die man einfach als „Umschlagen“ zu bezeichnen und durch wiederholtes mangelhaftes Pasteurisieren zu bekämpfen pflegt. Der Sake ist also sozusagen nicht nur während seiner Herstellung verschiedenen Infektionskrankheiten preisgegeben, sondern auch ab ovo mit gefährlichen Keimen behaftet, die nur vorläufig durch wiederholte Vorbeugungsmaßregeln von ihrer Entwickelung abgehalten werden können.

Unter diesen Umständen liegt der Gedanke nahe, die alkoholische Gärung der Sakemaische mittels rein gezüchteter passender Sakehefe durchzuführen, wie es in verschiedenen Gebieten der Gärungsgewerbe seit den bahnbrechenden Untersuchungen Hansen's unternommen wird. Es läßt sich wohl denken, daß dadurch Vorteile nach verschiedenen Richtungen hin erreicht werden können. Einmal wird die höchst mühsame und zeitraubende Arbeit der Motoherstellung durch eine verhältnismäßig einfache Methode der Hefereinzucht ersetzt. Sodann wird die Uebertragung der im Moto enthaltenen unangenehmen pilzlichen Stoffwechselprodukte und gefährlichen Krankheitskeime auf die Sakemaische gänzlich ausgeschlossen. Die Folge davon ist, daß nicht nur der Betrieb glatt von statten geht, sondern auch die Gärung der Sakemaische reiner nnd vollkommener und so die Ausbeute größer und das Gärprodukt reinschmeckender und haltbarer wird. Endlich wird dadurch, was bei dem jetzigen Betriebe leider nicht immer möglich ist, ein Sake von konstanter Beschaffenheit erzeugt, da man stets Abkömmlinge einer und derselben Heferasse verwenden kann, die einen guten Erfolg verbürgen.

Im Folgenden teilen wir die Ergebnisse der Laboratoriumsversuche mit, bei denen rein gezüchtete Hefe in Anwendung gebracht wurde:

Versuch I.

Um zunächst eine hinreichende Menge von reiner Sakehefe zu gewinnen, haben wir aus einer Kojiprobe eine gärkräftige Sakehefe isoliert und dieselben im Pasteur'schen und dann im Carlsberg-schen Kolben mit Kojiauszug weiter gezüchtet. Auch das beim Versuche benutzte Koji haben wir mit den Sporen des rein kultivierten Kojipilzes sorgfältig dargestellt. Es wurden dann 6 Scho (11 l) gedämpfter, aber nicht abgekühlter Reis und 2,4 Scho (4,4 l) Koji in einen kleinen Gärbottich gebracht und darauf 7,5 Scho (12,53 l) warmen Wassers zugesetzt, und zwar in der Weise, daß die Temperatur der ganzen Maische etwa 60° C betrug. Die Maische wurde

nach gründlichem Verrühren 3 Stunden lang bei der angegebenen Temperatur aufbewahrt, dann bis auf 20° C abgekühlt, mit etwa $^1/_2$ l Hefebrei versetzt und in einem kalten Keller der Gärung überlassen. Nach 8 Stunden machte sich die alkoholische Gärung bemerkbar, die allmählich an Lebhaftigkeit gewann. Am 6. Tage erreichte die Gärung ihren höchsten Punkt, wobei die Temperatur bis auf 24° C stieg. Am 13. Tage wurde die Maische so weit vergoren, daß sie abgepreßt werden konnte. Es wurden dabei 19 l Sake gewonnen.

Versuch II[1]).

Bei diesem zweiten Versuche wurde genau das doppelte Quantum von Reis, Koji und Wasser genommen, die Hefe dagegen in derselben Menge wie beim ersten verwendet. Auch das Vermaischen ging bei niedrigerer Temperatur (35—40° C), aber in längerem Zeitraume (5 Stunden) von statten. Hier machte sich die Gärung erst nach 15 Stunden bemerkbar. Sie schritt langsam vorwärts und zeigte sich vom 8.—9. Tage am lebhaftesten, wobei die Temperatur 22° C erreichte. Am 15. Tage wurde die vergorene Maische abgepreßt. Die Ausbeute an Sake betrug 39 l.

Bei dem ersten sowohl als auch bei dem zweiten Versuche wurde der abgepreßte Sake ohne Verzug in große Glaskolben gebracht und in einem kalten Keller aufgestellt. Nach 4 Tagen gingen die Hefezellen zu Boden und der Sake wurde vollständig klar. Dieser wurde vom Bodensatze abfiltriert und nach Probenahme zwecks chemischer Analyse auf dem Wasserbade bis auf 60° C erhitzt und in einem warmen Zimmer aufbewahrt. Nach Verlauf eines Monats zeigte sich weder in einem noch in dem anderen irgend eine Krankheitserscheinung.

Die folgende Tabelle gestattet einen Vergleich der von uns hergestellten Sakeproben mit den 3 bekanntesten, fabrikmäßig gebrauten Sorten.

	Sake		Masamune	Oiran	Hayarimatzu
	Vom I. Versuche	Vom II. Versuche			
Spezifisch. Gewicht	0,994	0,993	0,993	0,992	0,990
Alkohol [2])	13,40	13,23	12,33	12,61	14,63
	In Grammen pro Liter:				
Trockensubstanz	36,20	34,90	34,74	40,32	27,58
Nicht flücht. Säuren (als Milchsäure)	0,75	0,80 } Gesamte Säuren (als Essigsäure)	1,55	1,55	0,60
Flüchtige Säuren (als Essigsäure)	0,03	0,02			
Asche	0,50	0,45	—	—	0,56
Dextrin	5,5	8,3	2,5	—	3,6
Zucker (als Glukose)	5,0	7,06	3,5	—	2,8

Ueberblicken wir vorstehende Tabelle, so fällt zunächst ins Auge, daß unsere Sakeproben viel ärmer an Säuren sind als die fabrikmäßig gebrauten Sorten. Der Grund hierfür liegt einfach darin, daß bei der Verwendung reiner Hefe nicht nur die Uebertragung der im Moto enthaltenen Säuren in die Hauptmaische vollständig ausgeschlossen ist,

1) Dieser Versuch wurde von Herrn Dr. K. Yagi ausgeführt.
2) In Gewichtsprozenten von 100 ccm.

sondern auch die Nebengärungen, die beim üblichen Verfahren der Sakeherstellung in mehr oder weniger großem Umfange stattfinden, aufs Minimum beschränkt sind. Weiter zeigen unsere gegenüber den fabrikmäßig hergestellten Sakeproben einen größeren Dextrin- resp. Zuckergehalt. Dieser Unterschied rührt offenbar daher, daß die Lagerzeit, in der eine langsame Nachgärung stattfindet, bei unserem Sake viel kürzer war als bei den anderen, fabrikmäßig gebrauten Arten. In anderen Beziehungen zeigten unsere Sakeproben von den anderen keine Differenz. Hinzuzufügen ist noch dabei, daß der von uns hergestellte Sake in der That einen reinen Geschmack besaß, doch am Bouquet etwas zu wünschen übrig ließ. Ob dies von der verwendeten Heferasse herrührt oder auf die kurze Lagerzeit zurückzuführen ist, wird durch spätere Untersuchungen entschieden werden.

Endlich sei bemerkt, daß das Gärprodukt des ersten Versuchs mit dem des zweiten sehr gut übereinstimmt, obschon beim ersten Versuche die Gärung früher eintrat, stürmischer verlief und schneller aufhörte als beim zweiten, bei welchem eine geringere Menge von Hefe in Anwendung kam.

Die oben erwähnten Ergebnisse der Laboratoriumsversuche stellen verschiedene Vorteile in Aussicht, die durch die Verwendung reiner Hefe in der Praxis der Sakeherstellung erzielt werden können. Und diese Reform wird sich sicher ohne einschneidende Umwälzungen ausführen lassen, denn es handelt sich dabei hauptsächlich nur darum, anstatt des stark infizierten Moto reine Hefe zu benutzen, die entweder selbst gezüchtet oder in einer besonderen Anstalt hergestellt werden kann. Zur Erlangung einer großen Menge von Reinhefe besitzen wir eine Anzahl vortrefflicher Apparate, so z. B. den Kühle-Hansen'schen und den Lindner'schen Reinzuchtapparat.

Selbstverständlich müssen wir auch das Koji noch sorgfältiger herstellen, wie es bisher in manchen Fällen geschehen ist, sonst wird der Nutzen bei der Verwendung der Reinhefe ein geringer sein, da das stark infizierte Koji ebenso ungünstig auf den Charakter des werdenden Sake wirkt, wie das unreine Moto.

Bei der Verwendung reiner Sakehefe muß man zunächst eine Heferasse auswählen, die dem Gärprodukt die erwünschten Eigenschaften verleihen soll. Daß es auch bei der eigentlichen Sakehefe, wie z. B. bei der Bier- oder Weinhefe, wieder Unterarten oder Rassen giebt, die sich voneinander durch ihre physiologischen Eigenschaften unterscheiden, bezweifeln wir nicht, da die vorläufigen Gärversuche mit verschiedenen Sakehefen eine nicht geringe Differenz sowohl in Bezug auf ihre Gärungsenergie als auch auf ihre Gärdauer erkennen ließen. Hinzuzufügen ist noch, daß der Sake von einem bestimmten Produktionsgebiete eine gewisse geschmackliche Aehnlichkeit besitzt, die der Sakekenner unschwer herauszufinden vermag.

Es empfiehlt sich deshalb, bei der Verwendung rein gezüchteter Sakehefen in der Praxis zunächst aus dem Moto die vorwaltende Heferasse durch Reinkultur zu isolieren und diese zu benutzen. Man würde anderenfalls Gefahr laufen, Sake von ganz fremdartigem Charakter zu erhalten.

Was die anderen Manipulationen bei der Sakeherstellung anbelangt, so werden sie meist zunächst so beizubehalten sein, wie beim

bisherigen Verfahren. Die eine jedoch bedarf dringend noch einer Verbesserung, nämlich die Methode des Pasteurisierens. Dieser Teil des Verfahrens geschieht, wie schon erwähnt, in so mangelhafter Weise, daß dabei von einer vollkommenen Sterilisation keine Rede sein kann. Verharrt man bei der üblichen Weise des Pasteurisierens, dann würde der Sake, auch bei der Verwendung reiner Hefe während seiner Aufbewahrung immer noch wiederholt durch Krankheitskeime bedroht werden, denn während der weiteren Behandlung des einmal pasteurisierten Sake wird den Bakterien der Luft, unsauberer Gefäße u. s. f. vielfach Gelegenheit geboten, sich in diesem Getränke anzusiedeln, um später darin ihr Unwesen zu treiben. Um diesen Uebelstand zu vermeiden, braucht man nur anstatt des Kessels die sogenannten Pasteurisierapparate, die gewöhnlich zur Behandlung kranker Weine benutzt werden, in Anwendung zu bringen und den sterilisierten Sake direkt in gut gereinigte, durch einen Dampfapparat keimfrei gemachte Versandfässer fließen zu lassen. Selbstverständlich bedarf es bei diesem Vorgange peinlicher Beobachtung der dazu notwendigen Vorschriften, die aber im praktischen Betriebe nicht unüberwindliche Schwierigkeiten verursachen.

Nur die Verwendung reiner Hefe bei der Sakeherstellung in Verbindung mit der Ausführung des vollkommeneren Pasteurisierens kann uns in den Stand setzen, reinschmeckenden Sake von konstanter Beschaffenheit und ausreichender Haltbarkeit zu erzeugen. Dies würde nicht nur zur Vervollkommnung der umfangreichen Sakeindustrie sehr viel beitragen, sondern auch eine bedeutende Ersparnis an Geld zur Folge haben.

März 1899.

Referate.

Tsiklinsky, Sur les thermophiles des sources thermales. (Annales de l'Institut Pasteur. 1899. No. 10.)

Verf. untersuchte verschiedene Wasserproben aus Thermen der Insel Ischia, die von 3 verschiedenen Quellen stammten. Die Temperatur dieser 3 Quellen betrug 43°, 51°, und 73°. Es gelang, durch das Plattenverfahren (Agarplatten) 6 thermophile Arten zu isolieren, die sich in manchen morphologischen und biologischen Hinsichten ähnlich verhielten. Alle 6 waren unbewegliche Stäbchen, gut färbbar mit den gewöhnlichen Anilinfarben und nach Gram, nur aërob wachsend. Das Wachstumsoptimum der meisten lag bei 60°, doch wuchsen sämtliche selbst noch bei 70°. Mit Ausnahme einer einzigen Art entwickelten sie sich nicht unter 37°.

Aus der Quelle, deren Wasser eine Temperatur von 51° zeigte, isolierte Verf. einen, dem Heubacillus gleich sich verhaltenden Bacillus der sogar noch bei 57° ganz gut wuchs, und beim Vergleich mit Bacillus subtilis aus dem Laboratorium zeigte es sich, daß dieser letztere ebenfalls bei 57° noch zu wachsen imstande war, weniger üppig allerdings, als bei 37°. Es gelang dann auch, durch

wiederholtes Ueberimpfen und Aufbewahren bei 57° eine Varietät des gewöhnlichen subtilis zu bekommen, die sich bei dieser Temperatur sehr gut entwickelte. Durch weiteres langsames und graduelles Steigern der Temperatur der Kulturen hofft Verf. ein Wachstum bei noch höherer Temperatur erhalten zu können. Thomann (Bern).

Bourquelot et Herissey, Sur l'individualité de la séminase, ferment soluble secrété par les grains des légumineuses à albumen corné pendant la germination. (Compt. rend. de l'acad. des scienc. 1900. No. 6. p. 340.)

Durch frühere Untersuchungen der Verff. wurde die Existenz eines Ferments nachgewiesen, welches während der Keimung von Luzernen- und Trigonella(Fenugrec)samen auftritt und die in denselben gespeicherten Kohlehydrate zu Mannose und Galaktose hydrolisiert. Durch vorliegende Arbeit werden die früheren Angaben in der Beziehung ergänzt, daß durch vergleichende Versuche mit Diastase (aus Gerste) und dem neuen Ferment aus Luzerne und Trigonella Foenum graecum die Verschiedenheit beider mit Bestimmtheit bewiesen wird. Der Unterschied zeigt sich in der Einwirkung der beiden Fermente auf Kartoffelstärke und auf das Endosperm von Ceratonia. Stärke wird durch Diastase schnell, durch das Ferment der Luzerne langsamer und unvollkommen hydrolisiert, das hornige Endosperm der Ceratonia wird dagegen von der Luzernen-„Seminase" stark, von der Diastase nur wenig angegriffen. Die Bezeichnung „Seminase" ist mit Rücksicht auf den Namen Seminin gewählt, welchen man für Kohlehydrate, welche beim Hydrolisieren Mannose und Galaktose liefern, vorgeschlagen hat. G. Ritter (Moskau).

Ward, Archibald R., Ropiness in milk and cream. (Bulletin of the Cornell University Agricultural Experiment Station. No. 165. Ithaka, N. Y., 1899.)

Verf. hebt die praktische Wichtigkeit jener Studien hervor, welche sich mit der schleimigen oder fadenziehenden Milch beschäftigen, indem er auf die schweren Störungen hinweist, die im milchwirtschaftlichen Betriebe aus diesem Milchfehler entspringen. Er erwähnt, daß es sich hier um von gewissen Bakterien in der Milch ausgelöste Prozesse handelt und macht darauf aufmerksam, daß man diese Erscheinung nicht mit jener ebenfalls abnormalen Veränderung verwechseln dürfe, welche in der Milch bei gewissen entzündlichen Zuständen (in Amerika "garget" genannt) der Milchdrüse beobachtet wurden.

Von solchen Eutern gewonnene Milch, die in der Praxis auch manchmal „schleimig" genannt wird, ist infolge der Gegenwart von Eiter oder aber kleiner, weißer Caseïnklümpchen auch mehr oder weniger dicklich; allein es ist unrichtig, wenn von mancher Seite behauptet wurde, daß ganz allgemein jede Art von schleimiger Milch ihren Grund in einer Eutererkrankung habe.

Freilich kann der Fall eintreten, daß manche solcher Euterentzündungen durch bestimmte pathogene Bakterien veranlaßt werden, welche zugleich auch noch die Fähigkeit besitzen, in Milch kultiviert, eine schleimige bis fadenziehende Beschaffenheit zu veranlassen. Allein

in einem solchen Falle liegt die Ursache des Schleimigwerdens doch eigentlich außerhalb des Euters und nicht, wie die „Garget"-Theorie es haben will, in demselben.

Hierher gehört z. B. Bacillus Guillebeau, von dem festgestellt wurde, daß er ein charakteristischer Euterentzündungserreger sei, dem auch nebenbei noch die Eigenschaft zukommen soll, die Milch schleimig [1]) zu machen. Verf. betont mit Recht, daß in Anbetracht dessen, daß Niemand bisher in der Praxis in diesem Bacillus Guillebeau einen Erreger der schleimigen resp. fadenziehenden Milch feststellen konnte, sowie daß dieser Spaltpilz ein spezifischer Erreger von Euterentzündungen ist, in welchem Falle bekanntlich die Milch überhaupt nicht handelsfähig zu sein pflegt, es somit nur von geringem Interesse sein kann, in Bacillus Guillebeau und ihm ähnlichen Spaltpilzen mit Erreger und Ursachen der schleimigen Milch zu wissen.

Der in der Praxis des Molkereigewerbes gewöhnliche Fall des Fadenziehens der Milch wird also nicht von Euterentzündungserregern, sondern von anderen, nicht pathogenen Bakterienarten veranlaßt. Unter den bisher beschriebenen, diesen Milchfehler auslösenden Spaltpilzen verdient nun der von Adametz als häufiger Bewohner gewisser Bachwässer [2]) gefundene Bacillus lactis viscosus ganz besondere Beachtung. Dieses muß um so mehr hervorgehoben werden, als — wie Verf. erwähnt — in den meisten bakteriologischen Werken, in welche diese Arbeit Aufnahme gefunden hat, dieser Fähigkeit des Bacillus lactis viscosus, Milch im höchsten Grade fadenziehend zu machen, nur eine theoretische Bedeutung zuerkannt wird, weil jene charakteristischen Veränderungen von ihm in der Milch bei gewöhnlicher Temperatur nur sehr allmählich ausgelöst werden. Verf. sagt auf p. 397 wörtlich: "After a critical reading of A.'s paper in the L. J. of 1891, it becomes evident, that misconstructions have been placed upon his statements;" und ferner: "Those writers, who have underestimated the practical bearing of Adam.'s work, seem to have labored under the impression that ropiness must necessarily appear in the depths of the milk as well as in the cream, in order to be the cause of serious trouble."

Als Beweis für den großen Schaden, den Bacillus lactis viscosus in der Praxis der Milchwirtschaft bedingen kann, teilt dann Verf. zwei von ihm im Sommer 1898 eingehend studierte Fälle des zufälligen Auftretens fadenziehender Milch in nahe bei Ithaca, N. Y., befindlichen Molkereien mit. In beiden Fällen gelang es dem Verf., durch Reinkultur des Bacillus lactis viscosus aus den fadenziehenden Proben den einwandsfreien Nachweis zu erbringen, daß dieser Spaltpilz der Schädling war, der trotz seiner für gewöhn-

---

1) Aus Bern mir seiner Zeit zugegangene Reinkulturen dieses Spaltpilzes vermochten, in steriler Milch gezüchtet, nur nach längerer Kultur eine schwach schleimige Beschaffenheit auszulösen; eigentlich fadenziehende Beschaffenheit erlangte sie jedoch nicht. (Anmerkung des Ref.)

2) Untersuchungen über Bacillus lactis viscosus, einem weit verbreiteten milchwirtschaftlichen Schädling. (Landwirtschaftl. Jahrbücher. Berlin. Jahrg. 1891. p. 175—207.)

lich langsamen Entwickelung so schwere Störungen und materielle Verluste zu verursachen vermochte.

So leicht sich in Anbetracht der charakteristischen Eigenschaften des Bacillus lactis viscosus der Nachweis gestaltete, daß kein anderer Spaltpilz als er die Veranlassung des Fadenziehens gab, so schwer fiel es, die Pforte zu finden, durch welche Bacillus lactis viscosus in die Milch beider Molkereien gelangte. Vielleicht ist es nicht ohne Interesse, den Gang dieser Untersuchungen (wenigstens in einer der Molkereien) in Schlagworten mitzuteilen. Der 1. Fall betraf einen Milchhändler, der nur aus einem Stalle die Milch bezog und der die nicht sofort verkaufte Milch zwecks Butterbereitung zum Aufrahmen nach dem "deep setting"-Systeme (wahrscheinlich das uns unter dem Namen „System Cooly" bekannte amerikanische Aufrahmverfahren) benutzte. Während des 24—48-stündigen Aufrahmungsprozesses (Temperatur des Kühlwassers 6—7° C) wurde der Rahm stark fadenziehend; ebenso klagten Kunden über diesen Fehler, welche die gekaufte Milch nicht sofort konsumierten, sondern sie noch bis zum folgenden Morgen aufbewahrten.

Nachdem, wie schon erwähnt, Bacillus lactis viscosus als Erreger dieses Milchfehlers festgestellt worden war, untersuchte Verf. zunächst die Verhältnisse jenes Stalles, welcher die Milch lieferte, und zwar 1) nach dem Befeuchten der Euter mit einer verdünnten Karbolsäurelösung wurde von jeder Kuh eine Probe Milch in mit weiten Oeffnungen versehene sterile Gläser gemolken (günstige Gelegenheit für den Euterstaub etc., mit der Milch in die Gläser zu gelangen). 2) Von dem Gemelke einer jeden Kuh des betreffenden Stalles wurden je zwei Milchproben, und zwar eine bei Beginn, die andere beim Schluß des Melkens in sterile, aber mit engen Oeffnungen versehene Glasgefäße gemolken (ungünstige Gelegenheit für die Verunreinigung dieser Milchproben mit Euterschmutz).

Resultat: Sämtliche nach 1 und 2 gewonnene Milchproben wurden niemals fadenziehend.

3) An 2 verschiedenen Tagen wurde von der Milch einer jeden einzelnen Kuh des Stalles (12 Stück) eine Reinkultur angelegt. Die so erhaltenen Bakterienarten (5 an der Zahl) wurden in sterilisierter Milch kultiviert, welche jedoch niemals fadenziehend wurde.

Alle diese Untersuchungen lieferten somit den Beweis, daß der gesuchte Schädling gewiß nicht im Euter der Kühe vorkommen, kein pathogener Spaltpilz sein kann. Daher wurde 4) der Stallstaub, auch der vom Euter gewonnene, die Faeces etc., bakteriologisch untersucht, ohne daß auf den verwendeten Agarplatten Bacillus lactis viscosus hätte festgestellt werden können. Auch Proben sterilisierter Milch, welche mit Kotpartikeln aus dem Stallgange, Staub von den Oberbalken, Kuhhaaren, Wasser aus dem Tränktrog, den Sägespänen des Eishauses etc. geimpft worden waren, wurden nie fadenziehend, obschon alle möglichen Arten von Gärungserscheinungen auftraten.

Selbst eine eingehende bakteriologische Untersuchung der Kuhfaeces fiel negativ aus.

Nachdem auch diese Versuchsreihe resultatlos verlief (obschon der Fehler während all der Zeit, während welcher die Untersuchungen

gemacht wurden, weiter herrschte), so wendete Verf. sein Augenmerk 5) den verschiedenen Geräten in der Farm zu, mit welchen die Milch in Berührung kam. Deshalb untersuchte Verf. den Milchaerator, der in einem recht unreinen Zustande sich befand, die Melkeimer und die Milchseiher. Auch der am Rande eines Metallsiebes angesammelte Schmutz wurde eingehender untersucht. Der Schädling wurde zwar auch hier nirgends gefunden, dafür aber die immerhin interessante Thatsache festgestellt, daß der Schmutz des Aerators sowohl als auch des Milchsiebes die gleichen Bakterienspecies enthielt, welche die beide passierende Milch beherbergte.

Nachdem auch noch die Untersuchung der verschiedenen Tuchfilter negativ ausgefallen war, blieb nur mehr der Schluß übrig, daß weder die Euter der Kühe, noch irgendwie der Stall, noch endlich auch irgendwelche Stall- oder sonstwelche auf der Farm zur Milchreinigung verwendeten Utensilien als Sitz des Bacillus lactis viscosus in Betracht kommen können, daß mit einem Worte die Infektion der Milch mit Bacillus lactis viscosus überhaupt nicht im Stalle vor sich gehen könne.

Ganz anders gestalteten sich die Resultate der in der Molkerei vorgenommenen Untersuchungen. Die Prüfung des dort verwendeten Metallseihers, dessen Maschen z. T. mit Schmutz verstopft waren, sowie zweier (von 4) Aufrahmskannen fielen positiv aus, indem die Anwesenheit des Bacillus lactis viscosus festgestellt werden konnte. Verf. konnte in dieser kleinen Molkerei (wie später auch in einer zweiten größeren) mit voller Sicherheit nachweisen, daß die verwendeten Kannen, Metallseiher und Schöpfer den Sitz des Schädlings bildeten, und daß durch ihre Verwendung die ganze Milchmenge infiziert wurde.

Auf welche Weise nun Bacillus lactis viscosus auf die genannten Molkereigerätschaften kam, konnte nicht genau ermittelt werden, doch spricht Verf. die Ansicht aus, daß die Uebertragung höchst wahrscheinlich durch das verwendete Wasser bedingt wurde, nachdem aus verschiedenen, dort näher beleuchteten Momenten die Infektion der Gefäße etc. von der Luft aus nicht gut möglich erscheint.

Nachdem die Ursache dieses Milchfehlers erkannt worden war, fiel dessen Abstellung leicht; es wurde einfach die Reinigung der verschiedenen Geräte in den zwei Molkereien, die bis dahin sehr viel hatte zu wünschen übrig gelassen, mit größerer Sorgfalt und speziell unter ausgiebiger Verwendung von kochendem Wasser vorgenommen. Kleine Objekte mußten z. B. direkt 3 Minuten lang in kochendes Wasser getaucht, größere bis zum Rande damit gefüllt werden. Der Erfolg war natürlich durchschlagend, nachdem Bacillus lactis viscosus bekanntlich keine Dauersporen zu bilden vermag und daher gegen höhere Temperaturen sehr empfindlich ist.

Der Schluß der Arbeit enthält eine kurze morphologische und biologische Beschreibung des Bacillus lactis viscosus, von welcher als neu hervorgehoben werden mag, daß das Minimum der Temperatur, bei welcher noch Wachstum erfolgt, 8° C, das Maximum 40° C beträgt, daß Bacillus lactis viscosus schon bei 58° C nach 10 Minuten abstirbt und daß das direkte Sonnenlicht im Herbst

nach 3, im Winter nach 7 Stunden den Spaltpilz (in eingetrocknetem Zustande) vernichtet.

Im Dunkeln aufbewahrt behielt eine eingetrocknete Bouillonkultur des Bacillus lactis viscosus 1 Monat lang ihre Lebensfähigkeit.

Endlich möchte sich Ref. noch die Bemerkung gestatten, daß Herr A. Ward die Freundlichkeit hatte, ihm im vergangenen Herbst eine Reinkultur seines in Amerika gefundenen Bacillus lactis viscosus zu übersenden. Nach eingehender Prüfung konnte er feststellen, daß die übersandte Reinkultur thatsächlich in jeder Beziehung mit dem vom Ref. zuerst 1889 aus Bachwasser kultivierten Bacillus lactis viscosus identisch war.

Bezüglich der von Ward gerügten Thatsache, wonach in mehreren bakteriologischen Werken die Fähigkeit des Bacillus lactis viscosus, die Milch fadenziehend zu machen, zwar als theoretisch interessant anerkannt, aber als praktisch unwichtig hingestellt wird, möchte sich Ref. kurz den Hinweis darauf gestatten, daß schon jene 1891 über Bacillus lactis viscosus erschienene größere Arbeit den Nachweis erbracht hat, daß dieser Spaltpilz [1]) (in der Schweiz) thatsächlich sich in der Praxis als arger milchwirtschaftlicher Schädling entpuppte.

Es lag also für Jene, welche die Arbeit unparteiisch gelesen hatten, durchaus kein Grund vor, in die praktische Bedeutung des Bacillus lactis viscosus irgendwelchen Zweifel zu setzen.

Daß nun durch die Ward'sche Arbeit sein Vorkommen als milchwirtschaftlicher Schädling auch für Nordamerika festgestellt erscheint, macht diesen Spaltpilz, schon seines gewaltigen Verbreitungsgebietes wegen, natürlich nur um so interessanter.

L. Adametz (Wien).

Kalischer, O., Zur Biologie der peptonisierenden Milchbakterien. (Arch. f. Hyg. Bd. XXXVII. 1900. Heft 1.)

Unter den Arten von Bakterien, die nach dem Erhitzen der Milch auf 90—95° nicht zu Grunde gehen, unterscheidet Flügge 2 Arten: 1) die obligat anaëroben, die Milch meist stark zersetzenden Bakterien mit ziemlich widerstandsfähigen Sporen; 2) aërobe oder fakultativ anaërobe Bakterien, die der Gruppe der sogenannten Heu-(Kartoffel)bacillen zuzuzählen sind und hier am besten als peptonisierende Milchbakterien bezeichnet werden, mit außerordentlich resistenten Sporen. Beide Gruppen bringen Milch bei gewöhnlicher Reaktion durch ein labartiges Ferment zur Gerinnung und lösen dann durch ein peptonisierendes Ferment das gefällte Caseïn wieder auf. Man fand später, daß nur die Bakterien der ersten Gruppe die Buttersäuregärung hervorzurufen vermögen. Verf. stellte nun diesbezügliche Versuche mit einem Bakterium der zweiten Gruppe an. Es fand sich in der damit geimpften Milch eine langsame Abnahme des Milchzuckers, die nie unter 2,6 Proz. herabging. Diesen Umstand ließe sich hauptsächlich auf die direkte Lebensthätigkeit der Bakterien zurückführen. In geringem Grade soll auch das von den Bakterien gebildete Ammoniak auf den Milchzucker einwirken. Da ein den Milchzucker

1) Landw. Jahrbücher. Berlin 1891. p. 196.

invertierendes lösliches Ferment von den Bakterien nicht gebildet wird, so geht der Zersetzung des Milchzuckers eine Inversion außerhalb der Zellorganismen nicht voraus. Dagegen produzieren die Bakterien ein den Rohrzucker invertierendes lösliches Ferment.

Unter den Zersetzungsprodukten des Milchzuckers ließen sich mit Sicherheit nur flüchtige Säuren nachweisen.

Traubenzucker wird von den Bakterien viel stärker als Milchzucker angegriffen. In traubenzuckerhaltigen Lösungen erfolgt unter Vorherrschen der Säurebildung ein charakteristisches Binnenwachstum, während in milchzuckerhaltigen Lösungen nur Oberflächenwachstum bei starker Ammoniakentwickelung vorhanden ist. Das Fett wird von den Bakterien nicht angegriffen. Ein diastatisches Ferment wird nicht gebildet. Aus dem Caseïn wird von den Bakterien Albumose, später Pepton gebildet. Ferner wurden nachgewiesen Ammoniak, flüchtige Säuren, Tryptophan, Leucin, Tyrosin, die aromatischen Oxysäuren und ein Gemisch von Basen, unter denen sich durch Silberfällung eine schwer lösliche, gut krystallisierte Base gewinnen ließ. Durch Fermentbildung allein entstehen aus dem Caseïn: Pepton, Leucin, Tyrosin, die aromatischen Oxysäuren und etwas Ammoniak. Bis auf die Bildung der aromatischen Oxysäuren, die durch die Trypsinverdauung bisher nicht nachgewiesen wurden, zeigt das von den Bakterien produzierte verdauende Ferment vollständige Uebereinstimmung mit dem Trypsin. Das von den Bakterien gebildete Labferment verhält sich in seinen Eigenschaften analog dem gewöhnlichen Labferment. Deeleman (Dresden).

Schattenfroh, A. und **Graßberger, R.**, Ueber Buttersäuregärung. I. Abhandlung. (Archiv für Hygiene. Bd. XXXVII. Heft 1. p. 54—103.)

Die Verff. gehen daran, in ausführlicher Bearbeitung der Frage der Buttersäuregärung von neuem näherzutreten. Wie bekannt gingen die Ansichten der Autoren bisher immer noch auseinander, ob bei der Buttersäuregärung nur aërobe oder anaërobe oder beide Arten von Organismen beteiligt seien. Die Untersucher führen nun den Beweis, daß die Buttersäuregärung allein durch einen anaëroben Organismus und zwar durch den von ihnen als „Granulobacillus saccharobutyricus immobilis liquefaciens“ bezeichneten Bacillus bedingt werde, während die aëroben Bacillen, da wo es sich um Buttersäurebildung aus Kohlehydraten handelt, nicht als die wichtigsten anzusehen seien.

Zur Isolierung ihres Bacillus bedienen sich die Verff. des Botkin'schen Verfahrens, mittelst dessen sie aber den von Botkin gefundenen Bacillus butyricus, der bisher als Buttersäuregärungserreger bezeichnet wurde, nicht auffinden konnten. Sie gehen sogar in der am Schluß der Abhandlung befindlichen Kritik einen Schritt weiter und bezweifeln überhaupt die Existenz des Bacillus butyricus, da sie der Meinung sind, daß Botkin keine Reinkulturen vor sich gehabt habe.

Der „Granulobacillus“ gedeiht auf den meisten Nährböden, am besten auf Zuckeragar, ist streng anaërob und verflüssigt, wenn auch langsam die Gelatine. Sein Wachstumsoptimum liegt bei Luft-

temperatur. In allen Nährlösungen welche Dextrose, Saccharose, Lävulose, Stärkekleister, Maltose, Galaktose, Laktose enthalten, gedeiht der Organismus sehr gut, am besten aber in Milch.

Die Stäbchen färben sich nach Gram, sind gleichmäßig dick, an den Enden abgerundet, hier und da in Ketten angeordnet und bilden in jungen Kulturen Sporen. In alten Kulturen treten nie Sporen auf, auch wenn man die Bacillen auf Stärkekleisternährböden bringt, auf denen die jüngeren Kulturen sehr leicht sporulieren.

Interessant ist die eminente Widerstandsfähigkeit der Sporen gegen Erhitzen; sie ertragen ein $1^1/_2$ stündiges Erhitzen im strömenden Dampf.

Unter den Produkten, die bei der Buttersäuregärung durch den „Granulobacillus“ entstehen, verdient die Rechtsmilchsäure die aus einem linksdrehenden Zucker entstanden ist, besondere Beachtung. Außerdem entstehen noch Kohlensäure, Wasserstoff und ganz geringe Mengen Alkohol.

Eine gewisse Wichtigkeit beansprucht die Thatsache, daß der „Granulobacillus“ überaus häufig zu finden ist. Er wurde in Mehl, in verschiedenen Käsearten, im Kot des Menschen und besonders regelmäßig im Kot der Rinder nachgewiesen. Letzteres ist ein Faktum, aus dem die Möglichkeit einer Verunreinigung der Milch mit diesen Bacillen leicht abzuleiten ist.

Versuche über die Pathogenität haben gezeigt, daß der Organismus für Tiere vollständig unschädlich ist. 10 ccm Bouillonkultur brachten intraperitoneal beim Meerschweinchen keine toxischen Erscheinungen hervor. R. O. Neumann (Kiel).

Holdefleiß, F., Neue Versuche über das Lagern des Stalldüngers. (Mitteil. d. landw. Instituts d. kgl. Universität Breslau. 1899. Heft 2. p. 233—249.)

Die sorgfältigste und gelungenste mechanische Pflege des Stalldüngers — so notwendig sie ist, um eine noch viel größere Einbuße zu verhindern — genügt nicht, um ihn vor empfindlichen Verlusten an organischer Substanz und an Stickstoff zu schützen.

Auch bei weitestgehendem Luftabschluß und vollständigster Durchfeuchtung des Düngers mit Jauche und trotz seiner dabei erfolgenden Erhaltung in anscheinend frischem Zustande finden die mannigfaltigsten und ausgiebigsten Gärungen statt, welche zur Bildung von Kohlensäure, Ammoniak, Nitrat und Nitrit, zur Verflüchtigung von kohlensaurem Ammoniak und wahrscheinlich auch von freiem Stickstoff führen.

Dieses Resultat gilt nur für den aus dem Stalle heraus in Behälter, also auch auf die Düngerstätte, gebrachten Dünger, welcher bei diesem Ausbringen noch einmal reichlich mit Luft gemischt wird zu einer Zeit, wo die Gärungsvorgänge bereits in reichem Maße begonnen haben. Der Tiefstalldünger muß voraussichtlich ein hiervon verschiedenes Verhältnis zeigen, das dadurch bestimmt wird, daß er, in dauernder Ruhe unter den Tieren lagernd, dieses verhängnisvolle Mischen mit Luft wähend der Zersetzung nicht zu erdulden hat.

Durch das Einstreuen von Kainit und von Superphosphat in der gebräuchlichen Menge von etwa 2 Proz. des Düngers gelingt es, die

Gärungen derart zu modifizieren, daß jene Verluste auf ein Minimum beschränkt werden. Durch Kainit gelingt die Erhaltung der organischen Substanz vollkommener als durch Superphosphat, sein wesentlicher Vorzug ist daher der Gewinn eines größeren Quantums Dünger.

Auch in dem mit Kainit behandelten Dünger finden trotz des geringen Stoffverlustes sehr wirksame Gärungen und Umsetzungen statt, welche die Bestandteile des Düngers so vorbereiten, daß nicht eine langsame, verzögerte, sondern eine schnelle Wirkung desselben auf den Acker zu erwarten ist.

Es ist nicht wahr, daß Superphosphat (oder Superphosphatgips) das Austrocknen des Düngers befördert. E. Roth (Halle a. S.).

Gross, E., Die amerikanische Kuherbse, Cow pea (Vigna Catiang). Anbau und Impfversuche. (Oest.-ung. Zeitschr. f. Zuckerindustrie u. Landwirtsch. Jahrg. XXVIII. Heft 6. p. 765—780. Mit 5 photo-lithographischen Abbildungen.)

Bei der Bedeutung, die die cow pea für die amerikanische Landwirtschaft hat, mußte es von Interesse sein, zu untersuchen, ob diese Pflanze auch für die mitteleuropäischen Verhältnisse passe. Die ersten Versuche in dieser Richtung, die von Gross, Krafft, v. Liebenberg und v. Weinzierl ausgeführt wurden, hatten das Ergebnis, daß das Wärmebedürfnis der Pflanze in unserem Klima nicht gedeckt wird. Dabei stellte sich aber weiter heraus, daß die Pflanzen keine Wurzelknöllchen ansetzten, daß also bei uns das ihnen angepaßte Knöllchenbakterium fehlt. Dies veranlaßte den Verf., sich weiter eingehend mit Kulturversuchen der Vigna Catiang zu befassen und sein Augenmerk vor allem auf die Möglichkeit einer Bodenimpfung zu richten.

Bezüglich der Ansprüche an die klimatischen Verhältnisse wurde dabei von neuem festgestellt, daß unsere mitteleuropäischen Verhältnisse nicht geeignet zur Kultur der Cow pea sind, weiter aber auch, daß es durch Impfen mit Erde, in der Vigna in Amerika gewachsen, leicht möglich ist, die Bakterien auch bei uns zu akklimatisieren. Es ist dies deshalb von Wichtigkeit, weil damit der Nachweis geliefert ist, daß in wärmeren Gegenden ein ertragreicher Anbau möglich ist durch gleichzeitige Aussaat von Samen und Impferde.

Die Knöllchen entstehen bei Vigna Catiang nicht an den Pfahlwurzeln, sondern nur an den Seiten- und Faserwurzeln; sie sind fast kugelförmig, mit einem Durchmesser von 1—3 mm. Der Vergleich mit denjenigen von 30 verschiedenen Papilionaceen ergab nur eine Aehnlichkeit mit denen von Pisum sativum, die jedoch kleiner sind. Versuche, durch Zwischensaat von Cow pea zwischen unsere Leguminosen Knöllchenbildung hervorzurufen, hatten keinen positiven Erfolg, dagegen war die Impfung mit amerikanischer Impferde von einem vollständigen Erfolg begleitet, der sich sowohl in den Dimensionen der Vergleichspflanzen als auch im Gewicht derselben gut ausprägte. Appel (Charlottenburg).

Entwickelungshemmung und Vernichtung der Bakterien etc.

Ewert, Welche Mittel wähle ich zur Bekämpfung der Blutlaus? (Proskauer Obstbau-Ztg. 1900. p. 8.)

Verf. bespricht die wichtigsten in Frage kommenden Mittel, wie sie bereitet und wann sie angewendet werden können.

Krüger (Berlin).

Neue Litteratur,

zusammengestellt von

San.-Rat Dr. Arthur Würzburg,

Bibliothekar im Kaiserl. Gesundheitsamte in Berlin.

Allgemeines über Bakterien und Parasiten.

Arbeiten auf dem Gebiete der pathologischen Anatomie und Bakteriologie aus dem pathologisch-anatomischen Institut zu Tübingen, hrsg. von P. v. Baumgarten. Bd. III. Heft 1. gr. 8°. III, 251 p. Braunschweig (Harald Bruhn) 1900. 8 M.

Chester, F. D., Some suggestions on the study of systematic bacteriology. (Journ. of the Boston soc. of med. scienc. Vol. IV. 1900. No. 7. p. 178.)

Untersuchungsmethoden, Instrumente etc.

Dreyer, G., Bakterienfärbung in gleichzeitig nach van Gieson's Methode behandelten Schnitten. (Centralbl. f. Bakteriol. etc. I. Abt. Bd. XXVII. 1900. No. 14/15. p. 534—535.)

Hilbert, P., Ueber den Wert der Hankin'schen Methode zum Nachweis von Typhusbacillen im Wasser. (Centralbl. f. Bakteriol. etc. I. Abt. Bd. XXVII. 1900. No. 14/15. p. 526—532.)

Hinterberger, A., Eine Modifikation des Geißelfärbungsverfahrens nach van Ermengem. (Centralbl. f. Bakteriol. etc. I. Abt. Bd. XXVII. 1900. No. 16/17. p. 597—605.)

Kolster, R., Eine einfache Vorrichtung zum gleichzeitigen Auswaschen mehrerer Präparate. (Ztschr. f. wissenschaftl. Mikrosk. Bd. XVII. 1900. Heft 1. p. 9—13.)

Mayer, P., Ein einfacher Objektschieber. (Ztschr. f. wissenschaftl. Mikrosk. Bd. XVII. 1900. Heft 1. p. 7—9.)

Nuttall, G. H. F., Ein Apparat zur Herstellung von Rollkulturen. (Centralbl. f. Bakteriol. etc. I. Abt. Bd. XXVII. 1900. No. 16/17. p. 605—609.)

Petri, R. J., Eine einfache Vorrichtung zum Abfüllen der Nährgelatine. (Centralbl. f. Bakteriol. etc. I. Abt. Bd. XXVII. 1900. No. 14/15. p. 525—526.)

Pfeiffer, R., Ein neues Präpariermikroskop. (Centralbl. f. Bakteriol. etc. I. Abt. Bd. XXVII. 1900. No. 14/15. p. 535—537.)

Piorkowski, Ein Apparat zur Ermittelung von Desinfektionswirkungen. (Centralbl. f. Bakteriol. etc. I. Abt. Bd. XXVII. 1900. No. 16/17. p. 609—610.)

Systematik, Morphologie und Biologie.

Albert, R. u. Buchner, E., Hefepreßsaft und Fällungsmittel. (Ber. d. dtsch. chem. Gesellsch. 1899. No. 6. p. 971—975.)

Conn, H. W., Natural varieties of bacteria. (Journ. of the Boston soc. of med. scienc. Vol. IV. 1900. No. 7. p. 170.)

Eyferth's, B., einfachste Lebensformen des Tier- und Pflanzenreiches. Naturgeschichte der mikroskopischen Süßwasserbewohner. 3. Aufl. Von W. Schönichen und A. Kalberlah. gr. 8°. VII, 556 p. Mit üb. 700 Abbildgn. auf 16 Taf. in Lichtdr. nach Zeichngn. von A. Kalberlah. Braunschweig (Benno Goeritz) 1900. 20 M.

Feinberg, Ueber das Wachstum der Bakterien. (Dtsche med. Wchschr. 1900. No. 16. p. 256—257.)

Korn, O., Weitere Beiträge zur Kenntnis der säurefesten Bakterien. (Centralbl. f. Bakteriol. etc. I. Abt. Bd. XXVII. 1900. No. 14/15. p. 481—486.)
v. Linstow, O., Die Nematoden. (Fauna arctica, Römer & Schaudinn. Bd. I. 1900. Lfg. 1. p. 119—132.)
Müller, J. u. Masuyama, M., Ueber ein diastatisches Ferment im Hühnerei. (Ztschr. f. Biologie. Bd. XXXIX. 1900. Heft 4. p. 547—559.)
Noesske, H., Neue Untersuchungen über den Bacillus pyocyaneus und die Gesetze der Farbstoffbildung. (Arch. f. klin. Chir. Bd. LXI. 1900. Heft 1. p. 266—284.)
Raciborski, M., Parasitische Algen und Pilze Javas. I. Teil. gr. 8°. 39 p. Batavia 1900.
v. Rátz, St., Parasitologische Notizen. I. Distomum felineum aus der Leber der Katze. II. Filaria haemorrhagica im subkutanen Bindegewebe des Pferdes. III. Spiroptera reticulata in der Serosa des Pferdes. (Ztschr. f. Fleisch- u. Milchhygiene. 1900. Heft 8. p. 141—144.)
Rolants, E., Fermentation des figues de Barbarie. (Moniteur industr. 1899. p. 120.)
Sames, Th., Zur Kenntnis der bei höherer Temperatur wachsenden Bakterien- und Streptothrixarten. (Ztschr. f. Hygiene etc. Bd. XXXIII. 1900. Heft 3. p. 313—362.)
Schardinger, F., Entwickelungskreis einer Amoeba lobosa (Gymnamoeba): Amoeba Gruberi. (Aus: Sitzungsber. d. k. Akad. d. Wiss.) gr. 8°. 22 p. m. 2 Taf. Wien (in Komm. Carl Gerold's Sohn) 1900. 0,70 M.
Schikora, F., Entwickelungsbedingungen einiger abwässerreinigender Pilze, insbesondere Sphaerotilus fluitans nov. spec. und Leptomitus lacteus Ag. (Ztschr. f. Fischerei. Jahrg. VII. 1899. Heft 1.) gr. 8°. 27 p. Berlin.
v. Wasielewski u. Senn, G., Beiträge zur Kenntnis der Flagellaten des Rattenblutes. (Ztschr. f. Hygiene etc. Bd. XXXIII. 1900. Heft 3. p. 444—472.)
Weski, O., Mitteilungen über Distomum lancea Dies. (Centralbl. f. Bakteriol. etc. I. Abt. Bd. XXVII. 1900. No. 16/17. p. 579—583.)

Beziehungen der Bakterien und Parasiten zur unbelebten Natur.

Luft und Wasser.

Abba, F., Ueber die Notwendigkeit, die Technik der bakteriologischen Wasseruntersuchung gleichförmiger zu gestalten. (Ztschr. f. Hygiene etc. Bd. XXXIII. 1900. Heft 3. p. 372—386.)
Clark, H. W. and Gage, S. D., The significance of the appearance of B. coli communis in filtered water. (Journ. of the Boston soc. of med. scienc. Vol. IV. 1900. No. 7. p. 172—173.)
Dirksen, H. u. Spitta, O., Erwiderung auf G. Frank: Das Wasser der Spree innerhalb der Stadt Berlin im Jahre 1886 und im Jahre 1896 in bakteriologischer und chemischer Beziehung. (Ztschr. f. Hygiene etc. Bd. XXXIII. 1900. Heft 3. p. 363—371.)
Jordan, E. O., On the detection of Bacillus coli communis in water. (Journ. of the Boston soc. of med. scienc. Vol. IV. 1900. No. 7. p. 174—175.)
Report of the Water Committee on the report of the Royal Commission on London water supply, with appendices. No. 470. London. 1 sh. — Water Supply, London. Royal Commission. Evidence. Vol. I. 5 sh. 6 d. — Appendices. London. 3 sh. 7 d.

Nahrungs- und Genußmittel im allgemeinen, Gebrauchsgegenstände.

Prescott, S. C., On the bacteriology of canned foods with a detailed account of bacteria detected in sour corn. (Journ. of the Boston soc. of med. scienc. Vol. IV. 1900. No. 7. p. 181.)

Fleisch.

Pettersson, A., Experimentelle Untersuchungen über das Konservieren von Fisch und Fleisch mit Salzen. (Arch. f. Hygiene. Bd. XXXVII. 1900. Heft 2/3. p. 171—238.)

Milch, Molkerei.

Leighton, M. O., The importance of bacterial tests in the sanitary supervision of milk supplies. (Journ. of the Boston soc. of med. scienc. Vol. IV. 1900. No. 7. p. 180.)
Nietner, Wirtschaftliche und hygienische Reform des großstädtischen Milchhandels. (Berl. klin. Wchschr. 1900. No. 16. p. 355—356.)

Wohnungen, Abfallstoffe etc.

Clark, H. W., Recent work on sewage purification involving bacteria. (Journ. of the Boston soc. of med. scienc. Vol. IV. 1900. No. 7. p. 171—172.)

Kinnicutt, L. P., On the changes of opinion in England in favor of bacterial purification of sewage. (Journ. of the Boston soc. of med. scienc. Vol. IV. 1900. No. 7. p. 171.)

Beziehungen der Bakterien und Parasiten zu Pflanzen.

Harmlose Bakterien und Parasiten.

Hiltner, L., Bodenimpfung mit Reinkulturen oder mit rohem Boden? (Dtsche landwirtschaftl. Presse. 1899. No. 22, 24. p. 251—252, 277—278.)

Krankheitserregende Bakterien und Parasiten.

Appel, O., Wie schützen wir unsere Mistbeete und Frühjahrskulturen gegen Mäusefraß? (Gartenflora. 1900. Heft 7. p. 189—192.)

Birckel, A., Bekämpfung des Traubenwurmes. (Landwirtschaftl. Ztschr. f. Elsaß-Lothringen. 1900. No. 7. p. 97.)

Brunet, R., Les maladies et insectes de la vigne. 18⁰. Paris (Maison rustique) 1900. 4,50 fr.

Capus, J., L'observation du black-rot. 8⁰. 15 p. Bordeaux (Impr. Gounouilhou) 1900.

Cazeaux-Cazalet, G., Traitement du black-rot et du mildiou aux moments opportuns. 8⁰. 8 p. Bordeaux (Impr. Gounouilhou) 1900.

Destruction des animaux nuisibles; par un vieux piégeur. 2. éd. 8⁰. 248 p. Avec 57 fig. Vincennes (Impr. Lévy) 1899. 3 fr.

Goutière, J. F., Sur quelques maladies du tabac. (Journ. d'agricult. prat. 1899. No. 16. p. 569—571.)

Grobéty, A., Contre les maladies cryptogamiques. (Vigne franç. 1900. No. 5. p. 70—72.)

Hertzog, A., Die Bekämpfung des Aeschers und der Blattfallkrankheit. (Landwirtschaftl. Ztschr. f Elsaß-Lothringen. 1900. No. 5, 7. p. 65—66, 91—92.)

Hopkins, A. D., Preliminary report on the insect enemies of forests in the Northwest. An account of the results gained from a reconnaissance trip made in the spring and early summer of 1899. (U. S. Departm. of agric. Bullet. N. S. No. 21.) 8⁰. 27 p. Washington (Governm. Print. Off.) 1899.

Lasserre, G., La mort du phylloxera. 16⁰. 16 p. Paris (C. Lévy) 1900.

Müller-Thurgau, H., Naturgemäße Bekämpfung der Pflanzenkrankheiten. (Schweiz. landwirtschaftl. Centralbl. 1900. Heft 3. p. 69—86.)

Ormerod, E. A., Report of injurious insects and common farm pests during the year 1899. With methods of prevention and remedy. Roy. 8⁰. 160 p. London (Simpkin) 1900. 1 sh. 6 d.

Peglion, V., Le malattie crittogamiche delle piante coltivate. 16⁰. Casale (C. Cassone) 1900. 4,50 £.

Inhalt.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.

CENTRALBLATT
für
Bakteriologie, Parasitenkunde u. Infektionskrankheiten.

Zweite Abteilung:
Allgemeine, landwirtschaftlich-technologische Bakteriologie, Gärungsphysiologie, Pflanzenpathologie und Pflanzenschutz.

In Verbindung mit
Prof. Dr. **Adametz** in Wien, Prof. Dr. **J. Behrens** in Karlsruhe i. B., Prof. Dr. **M. W. Beijerinck** in Delft, Geh. Regierungsrat Prof. Dr. **A. B. Frank** in Berlin, Dr. **v. Freudenreich** in Bern, Privatdocent Dr. **Lindau** in Berlin, Prof. Dr. **Lindner** in Berlin, Dr. **Morris**, Chef des Hansen-Laboratory, Jenner-Institute of Preventive Medicine in London, Prof. Dr. **Müller-Thurgau** in Wädensweil, Dr. **Erwin F. Smith** in Washington, D. C., U. S. A., Prof. Dr. **Stutzer** in Breslau, Prof. Dr. **Wehmer** in Hannover, Prof. Dr. **Weigmann** in Kiel und Prof. Dr. **Winogradsky** in St. Petersburg
herausgegeben von
Dr. O. Uhlworm in Cassel
und
Prof. Dr. Emil Christian Hansen in Kopenhagen.

Verlag von Gustav Fischer in Jena.

VI. Bd. **Jena,** den 12. Juli 1900. **No. 13.**

Jährlich erscheinen 26 Nummern. Preis für den Band (Jahrgang) 20 Mark. Preis für eine einfache Nummer 75 Pfg., für eine Doppelnummer 1 Mark 50 Pfg. Nummern mit Tafeln kosten für jede Tafel 50 Pfg. mehr.
Hierzu als regelmäfsige Beilage die Inhaltsübersichten der I. Abteilung des Centralblattes.

Wünsche wegen Lieferung von besonderen Abdrücken wollen die Herren Mitarbeiter auf die Manuskripte schreiben oder bei Rücksendung der ersten Korrekturabzüge der Verlagsbuchhandlung mitteilen.

Original-Mitteilungen.

Einige Versuche über die Bildung von Essigsäure in Milch durch Milchsäurebakterien.

[Aus dem milchwirtschaftlich-bakteriologischen Laboratorium der Aktiengesellschaft Alfa-Laval Separator zu Hamra, Schweden.]

Von **Chr. Barthel.**

Schon seit längerer Zeit hat man sich damit begnügt, die Formel für die Umwandlung des Milchzuckers in Milchsäure auf folgende Weise zu bezeichnen:

$$C_{12}H_{22}O_{11} + H_2O = 4C_3H_6O_3.$$

Man hat jedoch schon lange gewußt, daß diese Formel nicht die richtige ist, denn außer der Milchsäure werden noch andere Produkte durch diesen Prozeß gebildet. Unter diesen Produkten müssen Essigsäure, Aethylalkohol sowie etwas Gas (hauptsächlich CO_2) erwähnt werden. Die Reaktion ist folglich von sehr komplizierter Art und läßt sich zur Zeit durch eine genaue chemische Formel nicht ausdrücken. Man hält nur deswegen fortwährend an der alten Formel fest, daß sie ja so weit richtig ist, weil der allergrößte Teil der bei der Milchsäuregärung gebildeten Produkte aus Milchsäure besteht.

Was die Mengen der bei der Milchsäuregärung gebildeten Gärungsprodukte betrifft, so nimmt die Essigsäure den zweiten Platz ein. Die Angaben, die man in der bakteriologischen Litteratur über die unter verschiedenen Umständen gebildete Menge von Essigsäure in der Milch findet, sind jedoch noch sehr spärlich.

Oppenheimer hat im Jahre 1889 darauf hingewiesen, daß mehr flüchtige Säure gebildet wird bei reichlicher Luftzufuhr als bei Anwesenheit von Luft. Kayser hat gleichfalls 1894[1]) dieselbe Beobachtung gemacht und nebenbei nachgewiesen, daß die Menge der gebildeten Essigsäure bei verschiedenen Milchsäurebakterien verschieden ist.

Es schien mir deswegen von Interesse zu sein, einige Versuche zu machen, um die Menge der in ein und derselben Milch und durch ein und dieselbe Bakterienart, aber unter verschiedenen äußeren Umständen, produzierten Essigsäure zu ermitteln.

Zu diesem Zwecke isolierte ich zunächst aus freiwillig geronnener Milch ein Milchsäurebakterium. Die von mir hierbei isolierte Bakterienart stimmt in morphologischer und biologischer Hinsicht mit Leichmann's Bacterium lactis acidi vollkommen überein, welches nach den einstimmigen Angaben mehrerer Forscher der gewöhnlichste Erreger des freiwilligen Sauerwerdens der Milch sein dürfte. Um in erster Linie feststellen zu können, wie weit eine starke Luftzufuhr einerseits und absolute Abwesenheit der Luft andererseits auf die Menge der gebildeten Essigsäure Einfluß ausüben kann, verfuhr ich folgendermaßen:

In sogenannten Fernbach-Kolben, welche zur Herstellung von Diphtherietoxin benutzt werden und die sich zur Aufnahme der Milch in dünner Schicht und nicht großer, der Luft zugänglicher Oberfläche speziell eignen, wurde innig vermischte Magermilch gefüllt. Von derselben Magermilch wurde gleichfalls in Pasteur-Kolben mit S-förmigem Halse gebracht. In jeden der erstgenannten Kolben würden 600 ccm Milch gefüllt, in jeden der übrigen 300 ccm, wonach sämtliche Kolben mit ihrem Inhalte sterilisiert wurden.

Nachdem sämtliche Kolben mit prozentual gleichem Quantum Milchkultur der von mir isolierten Bakterien geimpft worden waren, wurde alsdann mittels eines Aspirators ein Luftstrom durch die Fernbach-Kolben gesaugt, wobei die Luft zuerst eine mit Wasser angefüllte Flasche passieren mußte, um Feuchtigkeit aufzunehmen. In die Pasteur-Kolben wurde unter unaufhörlichem Umschütteln

1) Ann. de l'Inst. Pasteur. 1894.

der Milch reines Kohlensäuregas eingeleitet, bis alle Luft herausgetrieben worden war, worauf die Oeffnungen der Kolben zugeschmolzen wurden. Während der ganzen Dauer des Versuches wurde Luft durch die Fernbach-Kolben mehrere Stunden täglich hindurchgesaugt und da die Höhe der in den Kolben befindlichen Milchschicht 1 cm nicht überstieg, so sollte hierdurch eine kräftige Zufuhr von Sauerstoff bewirkt werden. In die zugeschmolzenen Kolben sollte dagegen kein Sauerstoff eindringen. Die beiden Sorten Kolben ließ ich bei gewöhnlicher Zimmertemperatur stehen. Die Ergebnisse waren folgende:

Versuch 1.

Die Kolben ließ ich auf oben beschriebene Weise bei einer durchschnittlichen Temperatur von 18—19° C 20 Tage lang stehen. Koagulation trat nach dem 2. Tage in sämtlichen Kolben ein. Ehe der Inhalt der Kolben analysiert wurde, wurden aus allen mikroskopische Präparate gemacht, um zu konstatieren, ob sie noch immer Reinkulturen von ein und derselben Milchsäurebakterie enthielten. Kein einziger von den Kolben wurde infiziert befunden. Nachdem der Inhalt der Kolben filtriert worden war, wurden in dem Filtrate die flüchtigen Säuren nach der Duclaux'schen Methode bestimmt[1]). Mittels dieser Methode können die flüchtigen Fettsäuren qualitativ wie auch quantitativ bestimmt werden. Es zeigte sich, daß sämtliche Filtrate reine Essigsäure enthielten, wobei die Filtrate von den Kolben, die unter CO_2-Atmosphären gestanden hatten, 0,008 Proz. $C_2H_4O_2$ enthielten, während die Filtrate von den Fernbach-Kolben 0,012 Proz. enthielten. Die Doppelversuche ergaben das identische Resultat bis auf 0,001 Proz.

Die Menge $C_2H_4O_2$, die sich bei starker Zufuhr von Sauerstoff bildet, verhält sich also gegenüber der bei Abwesenheit von Luft gebildeten wie 3 : 2, — ein ganz beträchtlicher Unterschied.

Versuch 2.

Ein zweiter Versuch wurde jetzt vorgenommen, in jeder Hinsicht auf dieselbe Weise wie bei dem vorhergehenden angeordnet. Die Mitteltemperatur der Zimmer bei diesem Versuche war 15° C. Koagulation stellte sich in allen Kolben etwas später ein, als bei dem oben angeführten Versuche, was auf die niedrige Temperatur zurückzuführen ist; die Koagulation erschien nämlich nach Verlauf von 4 Tagen bei den CO_2-Kolben und nach Verlauf von 7 Tagen bei den Fernbach-Kolben. Nachdem die Kolben 20 Tage lang gestanden hatten, wurde deren Inhalt auf ähnliche Weise wie bei dem vorigen Versuche analysiert. In der Milch, die unter CO_2 verwahrt worden war, waren die Mengen von $C_2H_4O_2$ resp. 0,008 und 0,007 Proz., während diejenigen der Kolben, die einer starken Luftzufuhr ausgesetzt worden waren, 0,011 Proz. betrugen. Hieraus ist ersichtlich, daß die Ergebnisse mit den in dem ersten Versuche gelieferten vollkommen übereinstimmen. Die hier gefundenen Essigsäuremengen sind natürlich geringer als diejenigen, die in der koagulierten Milch vor-

1) Ann. de l'Inst. Pasteur. 1895.

handen waren, denn es waren nur die Filtrate, die zur Bestimmung der $C_2H_4O_2$ verwendet wurden. Meine Absicht bei diesen Versuchen ging aber bloß darauf hinaus, vergleichende Ziffern zu erhalten, und dieses Ziel wurde ja auf oben beschriebene Weise vollkommen erreicht.

Die nächste Frage, die einer Prüfung unterzogen wurde, bestand darin, zu ermitteln, ob möglicherweise verschiedene Temperaturen irgendwelchen Einfluß auf die Bildung von $C_2H_4O_2$ durch Milchsäurebakterien ausüben. Zu diesem Zwecke wurden gleiche Mengen Reinkultur von denselben Milchsäurebakterien, die bei den vorigen Versuchen zur Verwendung gelangten, in eine Reihe von Kolben gebracht, welch letztere je 300 ccm sterile Magermilch enthielten. Diese Kolben ließ ich dann bei verschiedenen Temperaturen stehen.

Versuch 1.

Die Temperaturen, die bei diesen Versuchen angewendet wurden, waren 36 und 20° C. Nach Verlauf von 14 Tagen wurde der Inhalt sämtlicher Kolben analysiert (eine gleiche Anzahl Kolben war nämlich bei den beiden soeben genannten Temperaturen verwahrt worden). Bei der Analyse verfuhr ich auf dieselbe Weise wie bei den vorhergehenden Versuchen. Die Ergebnisse waren 0,010 Proz. $C_2H_4O_2$ in der bei 36° C verwahrten Milch, während die Milch, die bei einer Temperatur von 24° C gestanden, etwas mehr oder 0,011 Proz. enthielt. Auch in diesem Falle ergaben die Doppelversuche absolut identische Resultate. (Der Unterschied ist jedoch, wie man sieht, sehr gering.)

Versuch 2.

Bei diesem Versuche wurde die Milch bei 38 resp. 24 und 16° C gehalten. Die Analyse des Inhalts der Kolben wurde nach Verlauf von 12 Tagen vorgenommen. Die Milch, die bei 38° C gestanden, enthielt 0,007 Proz. $C_2H_4O_2$, diejenige bei 24° C 0,009 Proz. und diejenige bei 16° C 0,011 Proz.

Aus diesen beiden Versuchen läßt sich also erkennen, daß die Menge der gebildeten $C_2H_4O_2$ in der Proportion steigt, in der die Temperatur der Milch heruntergebracht wird, obwohl die Differenzen geringfügig sind. Durch diese beiden Versuchsserien findet man also, daß die Gelegenheiten, bei welchen die wenigste $C_2H_4O_2$ gebildet wird, gerade diejenigen sind, bei welchen die Milchsäurebakterien am besten gedeihen und sich entwickeln. Die Milchsäurebakterien ziehen die Abwesenheit der Luft einer starken Luftzufuhr vor und gerade bei der Abwesenheit der Luft wird die meiste $C_2H_4O_2$ gebildet. Die genannten Bakterien gedeihen auch am besten bei einer Temperatur von etwas über 30° C und bei dieser Temperatur wird die wenigste $C_2H_4O_2$ gebildet. Man dürfte daher wohl die Essigsäure als ein gewissermaßen pathologisches Produkt des Zellenlebens der Milchsäurebakterien ansehen, ähnlich wie bei der Alkoholhefe, weil die Menge dieser Produkte dann vermehrt wird, wenn die Bakterien unter für sie ungünstigen Bedingungen leben.

26. März 1900.

The Foul Brood of Bees. Bacillus alvei (Cheshire and W. Cheyne).

By **Francis C. Harrison**, Ontario, Canada.

With 4 figures.

Historical Resumé.

In all probability the first definite reference to foul brood is by Aristotle (1) who mentions an inertness which seizes the bees, and causes a bad smell in the hive. He also suggests that bees are liable to become diseased when the flowers on which they work are attacked by blight. Bee dysentery causes a bad odour as well as foul brood, but in the former disease the spotting and consequent smell are usually outside the hive.

Columella (2) mentions a bee pestilence and an annual distemper which seizes the bees in spring. Pliny (3) writes of a disease of bees, and as he uses the same term as Aristotle he has probably copied it from the latter author.

Schirach (4) in 1769 was the first writer to name the disease "Foul Brood". He says that "it is dangerous and a most destructive disorder to the bees, a genuine plague when the complaint has reached a certain stage. The cause can be attributed to two sources. — 1) The putrid (or tainted) food with which the bees feed the larvae for lack of having better. 2) By the mistake of the queen bee, in misplacing the larvae in their cells, head upside down. In this position the young bee, unable to get out of it prison dies and rots away." Further, Schirach clearly distinguishes between foul brood and chilled brood, and mentions the fact, that putrefaction follows the death of the brood from frost, but in this case, "it is only an accident and not a disease".

The remedy Schirach recommended was to remove all diseased combs from the infected hives and to keep the bees fasting for two days, after which they are furnished with other cakes of wax, and a suitable remedy given, "as a little hot water mixed with honey, nutmeg, or saffron, or a syrup composed of equal parts of sugar and wine, seasoned with nutmeg".

Thus, as Cowan (5) remarks "we have given us nearly 130 years ago a method of cure almost identical with what is by some claimed as new to day".

Tessier (6) about the same time as Schirach, says, that when the larvae die in their cells it causes an infection in the hive which makes the bees sick. It is then necessary to drive away or sometimes move the bees from the hive, and to take care to fumigate the infected hive, if it is going to be used again. It is necessary, in order to avoid the same inconvenience, to take out the parts of the comb that may be moulded by reason of the dampness. Duchet (7) who wrote on bees in 1771, does not mention any disease that can be certified as foul brood, but he describes bee dysentery.

Della Rocca (8), Vicaire General of Syra, an island in the Levant, relates with much detail the history of an epidemic of foul brood, which caused great destruction in the island during the years 1777 to 1780. Della Rocca describes very minutely the symptoms, destruction and mistakes that were made in attempting to combat the disease. "The disease manifests its presence by defects in the combs filled with brood, and which only contain a putrid mass; instead of the bee pupae there is only rotteness in the cells, which however being capped always preserve a healthy appearance. If these cells are broken open, a blackish liquid flows out, which spreads the infection through the hive. This disease only manifests itself in cells which contain a nearly mature larva or a capped one. The bees themselves remain in good health, and work with the same activity, but their numbers decrease daily. This disease, however, was not so general in a hive but that a small portion escaped; some new bees emerge but in too small numbers to supply the daily losses. Thus a hive attacked by this scourge will perish from scarcity of population. At first, it was not noticed that this disease was epidemic, and the hives emptied by death of the bees, were filled with fresh swarms, and these contracted the same disease and perished. Yet another mistake was made. The remains of the hives that were lost were taken into the streets of the town to expose them to the sun, in order to extract all the honey, and the bees from the neighbourhood sucked up the honey, caught the disease, and communicated it to other hives, and all without exception perished in a short time. The epidemic having reached the island, spread every where and the mortality among the bees was general, either from eating infected honey, or from stopping up of the infected combs, or from the bees nourishing their brood with infected honey." Della Rocca criticises Schirach's statement regarding the misplacement of the larvae by the queen as a cause of the disease, because "everybody knows that the queen has nothing else to do but deposit eggs. These are then cared for and nourished by the bees, and when the larva is nearly ready to change into the pupa, the bees close the cell, and every position which is given the larva depends on their good pleasure and not on the queens". Della Rocca, himself, thinks that "some pestilential blight had without doubt corrupted the quality of the honey and the dust from the authers", and recommends "burning every thing without pity, as there is no other resource when the disease is well established, as the pest is without doubt the most terrible in the natural history of bees".

Neither Wildman (9), Keys (10), Woolridge, Needham (11), Rhein, Reaumur (12), or other authors about the same time (latter end of the 18th century) mention this disease.

Bevan (13) names the disease "Pestilence", and also quotes Schirach's name "Foul Brood", and says regarding it "Pestilence has been attributed to the residence of dead larvae in the cells, from a careless deposition of ova by the queen . . . . . it has also been attributed to cold and bad nursing, that is, feeding with unwholesome food".

Nothing of note appears in bee literature till the year 1860 when Dr. Leuckhart (14) writes that he was formerly of the opinion that foul brood was caused by the same fungus (Panhistophyton ovatum) which is noticed in a disease of the silk worm, but now after observation and experiment, is quite certain that the disease is caused by neither vegetable nor animal parasite. He also notes that the term — foul brood — is applied to a number of diseases affecting bees.

Molitor Mühlfeld (15) recognizes two forms, one contagious and the other not contagious, and thinks that the only cause of contagious foul brood is a fly (Ichneumon apium mellificarium) which lays its eggs on the young larvae of the bee.

A discovery of note was Preuss' (16) in 1868. He contradicts Mühfeld's statement about the fly, and states that foul brood cells can be detected by the sunken cap. With a microscope magnifying 600 diameters, he found small dust like bodies, with a diameter of $\frac{1}{500}$ mm belonging to the genus Cryptococcus (Kutzig) and called the specific form alvearis, likened it to the fermentation fungus (Cryptococcus fermentum) and thought that the last germ gained access to the young bee and changed to Cryptococcus alvearis. He notices that many experts lay the cause of the disease to fermenting food but the larvae are easily contaminated by the fermentation fungus which is always present in the air. He also mentious the enormous rapidity with which the fungus multiplies and gives an elaborate calculation of the number that might be found in a cell containing a diseased larva.

As might have been expected, Preuss' statement aroused considerable discussion at the meeting of German beekeepers, a short while after the publication of Preuss' paper.

Vogel (17) expressed doubt as to whether C. alvearis is the real cause of foul brood or only a consequence of the disease, but on the whole agreed with Preuss.

Wiegand (17) agreed with Preuss' theory, then in giving his experience said that the disease was introduced into his apiary through honey brought from a distance.

Pollman (17) believed that the disease was introduced by feeding honey from Havanna, where, when extracting the honey, both brood and honey comb are mashed up and the honey pressed out.

Dr. Leuckhart (17) agreed with those who throught the disease due to a fungus, but discredited the supposition that it is the same as the fermentation fungus mentioned by Preuss, and rather thought that it was related to the silk worm fungus, and that most of the brood diseases ending in death are called "foul brood" while they are really something else. He believed that the fungus is present in the eggs of the queen when laid.

Geilen (17) believed that the disease came from the putrefying remains of animal bodies, upon which the bees alight.

Mühlfeld (18) again in 1869, presents his former views, and also those of Preuss' and gives directions for maintaining the health of bees, recommends the boiling of the honey, and the use

of carbolic acid in a strength of 1 : 100 or permanganate of potash 1 : 300 as disinfectants.

Lambrecht (19) thinks that foul brood is caused by the fermentation of the bee bread.

Hallier (19) considered it no specific disease, but could be produced by different fungi.

Cornallia (20) proved contrary to the above and found a fungus, which he thought developed foul brood. He called it Cryptococcus alveaxis and used carbolic acid, potassium permag., and lime water as disinfectants.

Fisher (21) came forward with a new foul brood theory in 1871, which somewhat followed the view of Liebig regarding the silk worm disease and plant diseases. According to this theory, the predisposing cause in insufficient nourishment, especially short stores for winter and spring. Shortage of pollen supply is the next cause. Fisher tried to prove his views by the practical experience of bee keepers and explained that the first cause of repeated and continued feeding is to augment the production of bees, and in consequence, a misproportion between brood and brood feeders arises, which must be looked upon as another cause of foul brood. The disease may be lessened or exterminated by applying means to lessen the production of brood, as removing the queen, and the area which the brood occupies. Foul brood is probably the cause of an quantitative dearth of nourishment and a consequent degeneration of the bees. The appearance of fungous growths is only a secondary matter.

Schonfeld (22) infected several hives with foul brood and when it had fully developed he took a comb of the rotten brood to the Physiological Institute at Breslau, and had it submitted to a microscopical examination by Drs. Cohn and Eidam (22).

"This examination showed that in every dead larva, and in each foul broody cell, whether the contents were yet white and fluid or brown, tenacious and ropy, there were to be found long oval bodies, which Preuss called "micrococci", close to and among them Cohn was the first to find, with the most powerful of the five microscopes that were used, a countless number of slender pale rods, joined together, and which he at once identified as bacteria of the genus bacillus. The length of a single rod was about 6 micromillimetres, but many of them were two and three jointed, so that these foul brood bacteria microscopically resemble the anthrax bacteria, though of course are different physiologically and in the manner in which they act as ferments."

It is not surprising when we remember the state of bacteriological knowledge in 1870, that Preuss should have mistaken micrococci for the spores of a bacillus. In 1885 Cheshire and W. Cheyne (23) confirmed and demonstrated that the disease foul brood was caused by a bacillus, to which they gave the name of Bacillus alvei. They worked out the following requirements (usually called the rules of Koch) with this bacillus.

1) Constant association of this germ (B. alvei) with the disease in the larvae of bees.

2) Isolation of the germ from the diseased larvae and study of the same in pure cultures on various media.

3) Production of the characteristic symptoms of the disease by inoculation of pure cultures.

4) Discovery of the same germ in the reinfected larvae. Reisolation and growth on various media comparable to that previously isolated.

The infection brought about by Cheshire was accomplished by spraying a particular part of the comb with a culture of B. alvei in milk. This part and no other became affected with foul brood. Adult bees were also infected by feeding them with these cultivated bacilli. The experiments of Cheshire and Cheyne convinced everyone and since that date B. alvei has been generally regarded as the causal agent in the production of the disease.

Dickel (24) wrote in 1888 that several species of bacilli were able to produce foul brood, two at least, for there was one form of the disease which affected the unsealed brood and another which affected the sealed brood; and even a third a mixed form which seemed to be most malignant.

Klamann (25) supported Dickel's researches but stated that it was not necessary to count but two kinds of the disease as there were certainly several other microbes which contributed to bring about the ruin of the hive. Klamann states that he found seven and is persuaded that he would be able to isolate an even greater number of bacteria from the diseased larvae. It seems to him certain that B. alvei is the most virulent and this germ alone is to be considered as the cause of foul brood.

Symptoms of the disease.

The disease principally affects the larvae. In a healthy comb, the young larvae lie at the bottom of the cells, curled up in the shape of the letter C, and in colour are of a pure pearly whiteness, plump in appearance with full skin. If examined when the disease is just developing, the affected larvae usually change their position and lie extended in the cell, or move about unnaturally. The bees themselves may at this time or subsequently show symptoms of the disease by a kind of inertness or inactivity which seizes them. As the disease progresses the young larvae lose their plump appearance, become flabby, die, then a process of decomposition begins which is shewn by their yellowish appearance. This yellow colour turns brown, and if touched with a pin or needle at this time or later, a portion of the putrid mass may be pulled out in a long, ropey and tenacious string, due "to the chitinous aerating sacs and tracheae which do not undergo decomposition at all, and these remaining, cause the peculiarity referred to" (26). This ropey mass gradually dries down to the bottom side of the cell, leaving nothing but a brown scale which adheres to the wax.

As a rule, the bees do no remove larvae dead from this disease, and they themselves become quite inactive, lose their desire to fly, and may be seen fanning at the entrance of the hive, which in many

cases emits a bad smell. A phase of the disease, which some authors have described as being a different form, is when the larvae die after the cells have been capped over. These cappings become darker in colour than those of the healthy brood, then become idented or sunken, and lastly become perforated with irregular holes. By putting a needle into any of these cells, the same ropey mass, before described, may be drawn out. If an examination is made from the juice of the larvae at different stages of the disease, the bacillus may be demonstrated, but not until after death has occurred, do spores form. The ropey mass contains large numbers of spores, as does also the dry scale.

According to Cheshire (26) the bees themselves become diseased, and from the blood he obtained the bacillus in most cases. Hilbert's examination in 1875 enabled him to declare that the mature bees were liable to be affected by it. Some writers contradict this statement, that the bees themselves are affected by the disease but they lose sight of the fact that the bees do not die in the hive, but leave it some time before death occurs.

The queen may become infected. Cheshire (26) demonstrated the presence of bacilli from the ovary of a queen, but he did not make cultures therefrom. W. G. Smith (27) reported that a queen sent to Cheshire and examined by him contained B. alvei in both of her ovaries. Mc Kenzie (28) examined five queens from infected hives and succeeded in obtaining bacilli from the ovaries of three. He thinks their presence there is apparently accidental, as in the case of a queen from a badly diseased hive he was unable to find the bacillus, whilst in a 6 weeks old queen from a hive, in which there were only a few diseased cells, he succeeded in finding it. A queen sent by T. A. Govan (29) to Cowan, the editor of the British Bee Journal was examined, and B. alvei was found in the ovaries. J. J. Ward (30) removed a queen from diseased hive and placed her in a strong healthy stock "which speedily became a mass of corruption". This operation was subsequently repeated with a like result.

I have also examined seven queens from diseased hives and in three cases had no difficulty in finding the bacillus and obtaining typical cultures there from. The method of examination employed was the same as that used by Mc Kenzie. The upper surface of the bee is sterilized, cut down through the top part, and all other organs removed except the ovaries. The surface of the ovaries is then sterilised, and a hot needle plunged into the centre and allowed to stay there until it is cold, when it is with drawn and inoculated into agar.

According to Cheshire (26), the bacilli are found in the eggs and in one examination he counted nine bacilli from a half developed egg taken from the ovary of a queen. Mc Kenzie (28) thinks that this statement requires confirmation and he was not able to find the eggs infected himself.

I have examined a very large number of eggs at various times, three different methods being employed. 1) The eggs were taken

from the cells in which they were laid, with sterilized forceps, washed in corrosive sublimate 1 : 500, crushed and placed on agar plates. In many cases typical growths of B. alvei occurred from eggs thus treated. Thinking that possibly the eggs may have been laid in cells previously infected with B. alvei and that the momentary immersion in corrosive sublimate failed to kill all the spores that may have been upon the exterior of the egg the next series — 2) were crushed between cover-glasses, a small portion was inoculated into agar, and the remaining portion on the cover-glass was stained by Gram's method. In several instances the bacillus was found in the crushed egg and the cultural test confirmed the microscopical examination; again deeming this method might be criticised for the same reasons as above stated — 3) eggs were imbedded in paraffin, serial sections made and stained by Gram's method. No cultural tests were made, but in a few eggs of several hundreds sectioned, a bacillus corresponding in its morphological characteristics to B. alvei was found. All the eggs examined were taken from hives more or less affected with the disease. The queens from these hives were unfortunately never examined.

Chilled brood.

Chilled brood is sometimes mistaken for foul brood, but in the former the larvae have a very different appearance from the latter. The larvae turn grey and afterwards the colour darkens, and in the final stages of decomposition are black. No ropiness develops. A number of writers in various bee periodicals have mistaken chilled brood for foul brood or they have stated that chilled brood turns to foul brood, but Schirach as long ago as 1769, clearly distinguished between the two, and Mc Kenzie (28) also performed several experiments to combat the statement that if chilled brood is allowed to putrify, foul brood may arise de novo. He endeavoured to isolate B. alvei from chilled brood, but without success. Again, he killed perfectly healthy brood by chilling, and infected some of the cells from a pure culture of B. alvei. The chilled brood were allowed to putrify in a moist chamber for several months and examined with the same results, viz., in the cells in which B. alvei was placed it was to be found, in the others, it was not present. I have performed similar experiments and fully confirm Mc Kenzie's statement. B. alvei has never been isolated from chilled brood in any stage of decomposition.

Canestrini (31) described a case which was in all probability chilled brood and not an infectious malady; his inoculation experiments failed to establish the pathogenicity of the bacillus, which morphologically resembled B. megaterium.

(Continuation follows.)

Vorläufige Mitteilung über Infektionsversuche mit Aecidium strobilinum.

Von Regierungsrat Dr. **Frhr. von Tubeuf** in Berlin.

Während man von den meisten Rostpilzen der Koniferen bereits die ganze komplizierte Biologie kennt, weiß man über das Leben und die Entwickelungsgeschichte einiger anderer fast noch gar nichts.

Zu letzteren gehören die zapfenbewohnenden Uredineen der Fichte. Es sind dies Peridermium conorum = Aecidium conorum Piceae und Aecidium strobilinum.

Das Peridermium conorum ist in Deutschland nur von de Bary bei Reinhardsbrunn in Thüringen und vom Verf. an verschiedenen Orten in Oberbayern und Nordtyrol gefunden worden. Infektionsversuche mit demselben sind mir nicht gelungen. Aecidium strobilinum ist dagegen ein sehr häufiger Parasit der Fichte und kommt mit ihr im ganzen Verbreitungsgebiete vor. Die Aecidien-tragenden, im Sommer abgefallenen Zapfen liegen mit sparrig abstehenden Schuppen oft in großen Massen am Boden der Fichtenwälder. Die Fichtensamen sind durch den Pilz zerstört.

Trotz der Häufigkeit kannte man seine Biologie bisher nicht. Die Sporen hatte man noch nicht keimen sehen, Infektionen waren nicht gemacht worden oder nicht geglückt. Die zweite Generation des Pilzes und ihre Wirtspflanze blieb unbekannt.

Dies hatte seinen Grund darin, daß man sehr selten die Möglichkeit hat, junge Fichtenblüten infizieren zu können. Die Fichte blüht meist erst im höheren Alter und in der Gipfelregion des Baumes. Die Sporen der Zapfenäcidien findet man aber selten in keimfähigem Zustande. Meist sind die Aecidien sogar bereits entleert oder enthalten keine keimfähigen Sporen mehr, so daß man auch schwer dazu kommt, mit ihnen zu experimentieren. Da ich im Herbst 1899 Gelegenheit hatte, in oberbayerischen Waldungen mich nach verschiedenem Pilzmateriale umzusehen und dabei einige Fichtenzapfen mit ganz intakten, noch geschlossenen Aecidien fand, wollte ich nicht versäumen, Infektionsversuche mit denselben auszuführen.

Hierbei kam mir das neu erbaute, aus einzelnen Glaszellen bestehende Infektionshaus unseres Versuchsfeldes in Dahlem bei Berlin sehr zu statten. Ich hatte in besonderen isolierten Zellen zu den beabsichtigten Versuchen bereits eine Anzahl absolut reiner und pilzfreier Pflanzen herangezogen. Unterdessen sandte mir in diesem Frühjahr Herr Dr. Klebahn, der verdienstvolle Uredineenforscher in Hamburg, eine Abhandlung, in welcher auch Infektionsversuche mit den Sporen des Aecidium strobilinum angeregt werden. Klebahn selbst konnte solche Versuche nicht ausführen, dagegen hatte er mit Pucciniastrum (oder Thecopsora) Padi Infektionen auf Prunus Padus, sowie auf den Zweigen der Lärche, Fichte, Tanne und Kiefer gemacht. Diese Versuche ergaben ein

negatives Resultat. Nur bei den Fichten trat ein Geruch auf, wie ihn die Spermogonien der Rostpilze haben.

Spermogonien konnten jedoch nicht nachgewiesen werden.

Es fand sich aber in den infizierten absterbenden Trieben doch ein Rostpilzmycel.

Ob sich dieser Befund bei Wiederholung der Versuche bestätigt, muß abgewartet werden, denn es ist immerhin ein sehr auffallendes Resultat und in der Natur ist ein derartiges Erkranken von Fichtenzweigen noch nicht beobachtet worden. Die Möglichkeit der Erscheinung wollen wir jedoch nicht bestreiten.

Wichtiger ist die Schlußfolgerung Klebahn's, daß der Pilz von Prunus Padus wahrscheinlich zu einem Fichtenpilze, und zwar vermutlich zu einem der 2 zapfenbewohnenden Arten gehöre, da ja keine anderen mit unbekanntem Zwischenwirt mehr bei uns existieren.

Diese Vermutung ist durch meine Experimente glänzend bestätigt worden. Alle anderen Infektionspflanzen und die in anderen Zellen untergebrachten Stöcke von Prunus Padus blieben pilzfrei, nur die Traubenkirsche bekam die Uredolager von Pucciniastrum Padi.

Demnach gehört also Aecidium strobilinum der Fichtenzapfen zu Pucciniastrum Padi auf den Blättern der Traubenkirsche.

Die Aecidien der Fichtenzapfen warfen am 24. Mai ihre Sporen aus. Die Infektionen auf Prunus Padus und andere Versuchspflanzen führte ich am 25. Mai aus. Die Uredosporen auf den Blättern der Traubenkirsche sah ich am 28. Juni, doch hatte sie der Gartengehilfe schon einige Tage früher, in denen ich nicht auf das Versuchsfeld kam, beobachtet.

Einen genaueren Bericht über meine Versuche werde ich in den bei Parey erscheinenden Arbeiten aus der Biologischen Abteilung für Land- und Forstwirtschaft am Kaiserl. Gesundheitsamte bringen.

Berlin, den 28. Juni 1900.

Bemerkung zum Mehltau der Apfelbäume.

Von C. Wehmer.

In seiner Ausführung über den Apfelmehltau in No. 8 dieses Jahrganges weist Herr P. Magnus[1]) in Berlin auf das Versehen hin, das ich durch Nichtaufnennung einer früheren Arbeit von ihm über den gleichen Gegenstand anläßlich meiner anspruchslosen Darstellung über hannoversche Pflanzenkrankheiten[2]) begangen habe.

1) Magnus, P., Ueber den Mehltau der Apfelbäume. (Centralbl. f. Bakt. etc. 2. Abt. Bd. VI. 1900. p. 253 u. f. Mit 2 Figuren.)

2) Pilzkrankheiten von Kulturpflanzen in der Provinz Hannover. II. (Centralbl. f. Bakt. etc. 2. Abt. Bd. VI. 1900. p. 5[illegible] u. f.)

Wenn mich auch die Art dieser Reklamation in einer Frage, die allein dem Ermessen des Autors anheimsteht, etwas fremdartig berührt, so wird damit an der Sache selbst doch nichts geändert. Ueber biologische und pathologische Dinge finde ich in der früheren Mitteilung von Magnus so gut wie gar nichts. Wohin übrigens mein Perithecien-loser Mehltau zu ziehen ist, habe ich offen gelassen — wie ich überhaupt die Speciesfrage nur ganz nebensächlich behandelte[1]) — seine Identität mit Sphaerotheca Castagnëi bezweifelte ich selbst (p. 53). Ueber den Wert der verschiedenen Species in dieser Gruppe haben in erster Linie sehr wünschenswerte praktische Versuche Aufschluß zu geben.

Weiterhin macht Magnus dann Einwendungen gegen einige von mir hervorgehobene Punkte, die, genau besehen, aber gar keine sind. Zu der Art des Auftretens des Apfelmehltau hebt derselbe eingangs (p. 254) hervor, daß seine Beobachtungen nicht mit den meinen übereinstimmen, am Schlusse kommt dann aber die Bemerkung, daß sich der Mehltau „wahrscheinlich verschieden verhält“ (!). Nun das geht ja eben aus den Beobachtungen bereits hervor und ich selbst betonte die Giltigkeit meiner Angaben für einen ganz bestimmten Fall. Eine richtige Vorstellung von einer Krankheit nach Eintreten, Verlauf, Erlöschen und Effekt läßt sich wohl nur bei genauerem Verfolg konkreter Fälle, aber nicht auf Grund gelegentlicher Untersuchungen der Schimmelvegetation eingesandter Blätter oder Zweige irgendwelcher Bäume und Sorten gewinnen.

Endlich bricht Magnus eine Lanze für das „Schwefeln“. Daß der die Blattunterseite hochstämmiger Apfelbäume bewohnende Mehltau — auf den ich mich l. c. bezog — nicht mit dem meist blattoberseits auf leicht zu bepudernden niedrigen Reb- und Rosenstöcken vegetierenden, dessen Bekämpfung durch Schwefel in jedem Buche steht, zu vergleichen ist, scheint derselbe dabei zu übersehen. Persönliche Erfahrungen, die ich jährlich bei Verfolg der seitens der hiesigen städtischen Gartendirektion angeordneten diesbezüglichen Maßnahmen (auch für Rosen) zu sammeln Gelegenheit habe, sind mir da wertvoller als allgemein gehaltene, nicht näher belegte Behauptungen, und ich bezweifle wohl mit einigem Recht, daß Magnus irgendwelche eigene positive Erfahrungen, speziell auch über die Bekämpfung des Apfelmehltau durch Schwefeln aufweisen kann. Für die sehr notwendige wissenschaftliche Durcharbeitung und Klärung dieser wie vieler anderer pathologischer Fragen sind Erörterungen vom grünen Tisch des Systematikers her aber kaum von Vorteil.

---

1) Anderenfalls hätte noch weit mehr an zu berücksichtigender Litteratur vorgelegen, als gerade die trockene Mitteilung von Magnus.

Referate.

Zopf, W., Oxalsäurebildung durch Bakterien. (Berichte der deutsch. bot. Gesellsch. Jahrg. XVIII. Heft 1. p. 32—34. Mit einem Holzschnitt.)

Die Oxalsäurebildung aus Traubenzucker durch Bakterien macht Verf. zum Gegenstand einer vorläufigen Mitteilung. Zunächst sind es die Essigbakterien: B. aceti Hansen, acetigenum Henneberg, acetosum Henneberg, ascendens Henneberg, Kützingianum Hansen, Pasteurianum Hansen und xylinum J. Brown, die untersucht worden sind und bei denen nachgewiesen wurde, daß sie sämtlich die Fähigkeit haben, Traubenzucker in Oxalsäure zu oxydieren. Wohl mit Recht nimmt Verf. an, daß auch zahlreiche andere Arten, besonders solche, die auch in anderer Richtung Oxydationen auszuführen vermögen, Oxalsäure bilden können.

Die gebildete Oxalsäure lagert sich in Form von Kalkoxalatkrystallen im Substrate ab. Kontrollkulturen auf zuckerfreien Nährböden ergaben negative Resultate, so daß die Möglichkeit der Bildung von Oxalsäure aus Kohlenstoffverbindungen des Fleischextraktes, das zur Darstellung der Nährboden Verwendung fand, ausgeschlossen erscheint. Appel (Charlottenburg).

Stutzer, A., Der jetzige Stand der Forschungen über die Gestalt der salpeterbildenden Organismen. (Fühling's Landwirtschaftl. Ztg. 1899. Heft 7.)

Nach Verf.'s Ansicht scheinen die bis jetzt publizierten Untersuchungen über die salpeterbildenden Organismen noch nichts Positives erbracht zu haben. Der Lösung dieser Frage stellen sich außerordentliche Schwierigkeiten entgegen, da die jetzigen Forschungsmethoden nicht geeignet sind, diese Lebewesen zu isolieren. Die Salpeterbildner verbergen sich gewissermaßen hinter anderen, leichter zu beobachtenden Organismen und werden die letzteren dann fälschlich für die Urheber der Salpeterbildung gehalten.

Dem Verf. ist es nun gelungen, den Nitratbildner in tadelloser Reinkultur zu erhalten. Die Untersuchungen sollen demnächst veröffentlicht werden. Vorgreifend wird Folgendes erwähnt:

Im Erdboden existieren verschiedene Arten sehr kleiner Lebewesen, welche von den bisher bekannten Mikroorganismen in morphologischer und physiologischer Hinsicht ein abweichendes Verhalten zeigen und in das bisherige System von Organismen nicht hineinpassen. Reinmann (Hildesheim).

Boettinger, Carl, Studien über Hefe. (Chem.-Ztg. 1899. No. 29.)

Die Mitteilungen von Wehmer (Ueber die Wirkung einiger Gifte auf Hefe und Gärung [Chem.-Ztg. 1899. No. 16]) und Jacquemin (Neue Beobachtungen über die Entwickelung aromatischer Prinzipien durch alkoholische Gärung in Gegenwart einiger Blätter, insbesondere der Reben [Compt. rend. T. CXXVIII. 1899]) veranlaßten

Verf., auch seinerseits einige Beobachtungen mitzuteilen, deren Ergebnisse in unmittelbarem Zusammenhang mit den Angaben der genannten Forscher stehen.

Zu den Versuchen wurde eine verdünnte Traubenzuckerlösung verwendet; die Vergärung wurde durch gute Preßhefe festgestellt.

Nach Zusatz von kaustischem Kalk allein zu der mit Hefe versetzten Vergärungsflüssigkeit, sowie bei Gegenwart von kaustischem Kalk plus Kupfervitriol trat in allen Versuchen eine Zuckerzerstörung ein, in zwei Versuchen wurde sicher keine Kohlensäure entbunden.

Schon in einer früheren Abhandlung berichtete Verf. über die gärungshemmenden Eigenschaften der Glyoxylsäure. Werden zu 60 ccm Wasser 3 g Preßhefe, 5 g Traubenzucker und 1 ccm syrupöse Glyoxylsäure gegeben, so beobachtet man zwar anfangs eine langsam verlaufende Gasentwickelung, dieselbe hört aber bald auf und die Hefe lagert sich in der fast ganz klar werdenden Flüssigkeit wie tot ab. Gleichwohl ist sie nicht tot, denn die Mischung nimmt einen eigentümlichen charakteristischen Geruch an. Werden nach 14 Tagen abermals 2 g Preßhefe eingetragen, so bewirkt diese nun eine andauernde Entwickelung von Kohlensäure. Da die Flüssigkeit auch weiß trübe bleibt, so deutet dies darauf hin, daß die Wirkung der Glyoxylsäure abgeschwächt worden ist. Von den 5 g Zucker fanden sich nach 41 Tagen noch 1,429 g im Filtrat vor, aus welchem sich auch mit Leichtigkeit Kalksäure, die vorher nicht da war, und noch viel Glyoxylsäure als Kalksalze abscheiden ließen.

Da nun nach älteren Angaben Glyoxylsäure in Rebenblättern gefunden worden ist, so decken sich vielleicht die Wahrnehmungen des Verf.'s mit den Beobachtungen von Jacquemin.

Bei einer anderen Versuchsanordnung verwendete Verf. an Stelle von Glyoxylsäure die mit dieser homologe Brenztraubensäure, und zwar 1 g. Sie wirkte ähnlich, aber nicht so energisch wie die Glyoxylsäure auf Hefe, denn sie gestattet für längere Zeit die Entbindung von Kohlensäure und bedingt das Auftreten eines intensiven Geruchs nach Steinklee. Nach 9-tägiger Versuchsdauer waren von 3 g Traubenzucker noch 0,072 g übrig geblieben.

Reinmann (Hildesheim).

Meissner, R., Ueber einige Ursachen des Trübwerdens der Weine. [Vortrag, gehalten auf dem 18. deutschen Weinbaukongresse zu Würzburg.] (Weinbau und Weinhandel. 1899.)

Im Anschlusse an Wortmann's Untersuchungen über die Trübung der Flaschenweine durch Inhaltsbestandteile zu Grunde gegangener Hefezellen betont Meißner den Nutzen einer mikroskopischen Untersuchung des trüben Weines, um sofort und sicher dem Uebel abzuhelfen. Die Ursachen der Trübung können sehr verschieden sein (Trübung durch sprossende Hefe, durch Bakterien u. s. w.), und je nach der Ursache muß auch die Behandlung eine verschiedene sein. Das Mikroskop enthüllt die Ursache und giebt dadurch sofort auch die Mittel und Wege zur Beseitigung der Trübung an, die jenachdem durch Filtrieren, Schönen, Durch- oder Umgären erfolgen kann.

Behrens (Karlsruhe).

Van Laer, H., Contributions à l'études des fermentations visqueuses. Recherches sur les bières à double face. (Annales de l'Institut Pasteur. T. XIV. 1900. p. 82—101.)

Unter Bier „à double face" versteht van Laer solche Biere, welche im durchfallenden Licht absolut klar, im auffallenden aber trübe erscheinen, ein Uebel, das bei den als Faro und Lambic bezeichneten Bieren sehr häufig vorkommt und bei den ohne Reinhefe arbeitenden Brauereien meist $1^1/_2$—2 Jahre nach der Fabrikation aufzutreten pflegt.

Verf. hat seit 1896 sich mit dem Studium der Krankheitserscheinung beschäftigt. Er entnahm während der Kampagne 1896/97 — beide Biere werden nur im Winter gebraut — regelmäßig Proben von der Würze und überließ dieselben in offenen Flaschen der Gärung bei 18—20° C. Erst als die Gärung vollkommen beendet war und eine Kahmhaut sich zu bilden begann, wurden die Flaschen verschlossen. In Uebereinstimmung mit der bereits früher konstatierten Thatsache, daß alle Faro- und Lambicwürzen bereits bei ihrer Einfüllung in die Gärfässer die Erreger der Schleimgärung enthalten, war im November 1897 der Inhalt aller Flaschen schleimig, besaßen gleichzeitig aber auch „double face". Ein Jahr später war der Schleim verschwunden, die eigenartige Trübung in auffallendem Licht aber erhalten. In der Brauerei dagegen war die Mehrzahl der Biere gesund. Von 50 Flaschen, die in einem kalten Keller, also unter ähnlichen Temperaturverhältnissen, wie im Großbetrieb, vergärten und sofort nach beendigter Gärung verschlossen wurden, waren nur 4 von dem Uebel befallen; sie waren zugleich fadenziehend. Verf. zieht aus diesen Beobachtungen den Schluß, daß die Ursache des Uebels eine eigenartige schleimige Gärung ist.

Um den Urheber derselben zu isolieren, brachte van Laer aus kranken Bieren nach gutem Absetzen ca. 1 ccm Flüssigkeit in sterilisierte Würze gleichzeitig mit einer Hefe von schwacher Attenuation. Nach beendeter Gärung wurde das Bier von der Hefe in sterile Flaschen abgegossen und bei Zimmertemperatur aufbewahrt. Einige von diesen erhielten die „double face" und schieden gleichzeitig einen reichen weißen, zoogloea-artigen Bodensatz aus. Dieser wurde in steriles Bier übergeführt und dann wurden davon Platten von Würzegelatine gegossen. Unter den so isolierten Organismen erwies sich ein Stäbchenbakterium von 1,7—2,8 μ Länge und 0,5—0,8 μ Breite als Urheber der „double face" und des Fadenziehens der Biere. In Medien, die der Organismus nicht schleimig macht, oder in denen der Schleim bereits wieder verschwunden ist, besitzt er eine Kapsel. In fadenziehenden Bieren sind die Kapseln vereinigt durch einen schleimigen Körper, der später verschwindet. Verf. nennt den Organismus Bacillus viscosus bruxellensis. Sonderbarerweise giebt er noch an, daß durch Einschnürungen der Kapsel (Teilungsanfänge) der Bacillus das Aussehen von Tetraden und Sarcinen gewinnen könne.

Auf Würzegelatine bildet der Bacillus bruxellensis große, runde, schleimige, durchsichtige und gezonte Kolonieen, am Rande weiß und regelmäßig, in der Mitte gelblich. Er wächst auf Kar-

toffeln, in Hefeabsurd mit und ohne Zusatz von Zucker (Dextrose, Maltose, Rohr- oder Milchzucker). Milch gerinnt, ohne fadenziehend zu werden. Würze macht er schnell schleimig, um später den Schleim wieder zu zerstören. Während der Schleimbildung wird auch CO_2 gebildet. Am Boden der schleimigen Flüssigkeit findet sich ein reicher Niederschlag, der in sehr verdünnter Kalilauge fast vollständig zu einer sehr zähen Flüssigkeit sich löst, durch Neutralisation derselben mit Essigsäure aber als dunkle Masse sich fällen läßt. Die Oberfläche der schleimigen Flüssigkeit ist mit einer weißlichen Haut bedeckt, nach deren Entfernung die restierende Flüssigkeit weit weniger fadenziehend ist. Würze macht den Bacillus um so schleimiger, je konzentrierter sie ist.

Die chemische Untersuchung kranker und gesunder Biere ergab keinen Unterschied in Gehalt an flüchtigen und nicht flüchtigen Säuren; dagegen war der Alkoholgehalt kranken Bieres stets niedriger, der Extraktgehalt höher als bei gesundem Bier; augenscheinlich wird die Thätigkeit der Hefe durch den Bacillus bruxellensis gehemmt. Das ergab sich auch bei exakten Versuchen mit Reinkulturen von Hefe und dem Bacillus.

Der Grad der Viskosität, welchen der Bacillus in einer Würze erzeugt, wechselt sehr je nach seiner Herkunft. Reichlicher Luftzutritt während der Entwickelung oder beim Aufbewahren in Würze nimmt ihm die Fähigkeit der Schleimbildung definitiv, die er umgekehrt bei Luftausschluß bewahrt. Ueberhaupt ist das Phänomen des Fadenziehens ein sehr launiges: Es tritt plötzlich ein in einem Medium, das man wochenlang vergeblich darauf prüfte. Auch die chemische Zusammensetzung des Nährmediums ist darauf von wesentlichem Einfluß: Mit Weizen gebraute Biere neigen besonders zu der Krankheit. Eine Erhöhung des Stickstoffgehaltes begünstigt das Auftreten des Schleimes durch den Bacillus bruxellensis. Erhöht man den Stickstoffgehalt einer infizierten Würze, welche die Periode des Fadenziehens schon hinter sich hat, nachträglich wieder durch Zusatz sterilisierter Harnstoff- oder Asparaginlösungen, so wird die Flüssigkeit wieder schleimig.

Die chemische Analyse der verschiedenen Schleimbildungen, der von der Oberfläche der Flüssigkeit, der in der Flüssigkeit suspendierten und endlich des oben erwähnten Bodensatzes, der aus eingekapselten Bakterien besteht, ergab, daß die Kapselsubstanz stickstoffhaltig ist, und daß der die Kapseln verbindende Schleim stickstofffreie Körper enthält.

Sät man in eine bereits über das Stadium des Schleimigseins hinaus gelangte Reinkultur des Bacillus bruxellensis Kahmpilz, Penicillium glaucum oder Aspergillus niger, so wird die Flüssigkeit wieder schleimig, wenn die ausgesäten Pilze überhaupt wachsen. Diese scheinen also die stickstoffhaltigen Bestandteile der sonst erschöpften und zur Schleimbildung untauglichen Kulturflüssigkeit derart zu verändern, daß sie dem Bacillus Material zur Kapselbildung zu liefern vermögen.

Von Kohlehydraten wird von dem Bacillus zunächst die Dextrose, aber auch Rohr- und Milchzucker und Maltose verbraucht. Dabei

bildet er Milchsäure und flüchtige Säuren (Essig- und Buttersäure), die bei Zusatz von Calciumkarbonat angehäuft werden. In Würze wird auch eine Spur Alkohol gebildet.

Der Organismus der „double face“ verbraucht also die stickstoffhaltigen Bestandteile der Würze zur Schleimbildung. Außerdem aber vergärt er auch, wie der Organismus des gewöhnlichen Schleimigwerdens, die Kohlehydrate. Behrens (Karlsruhe).

Frank und **Krüger**, Ueber die gegenwärtig herrschende Monilia-Epidemie der Obstbäume. (Landwirtschaftliche Jahrbücher. Bd. XXVIII. 1899. p. 185—216.)

In den letzten Jahren ist eine überaus verderbliche Krankheit der Obstbäume, über den größten Teil von Deutschland verbreitet, aufgetreten. Nach der Art ihres Auftretens und ihres Umsichgreifens, sowie wegen ihres nachweislich ansteckenden Charakters und namentlich weil ein eigentümlicher, konstant bei ihr auftretender Pilz, der Fruchtschimmel, Monilia fructigena, als der Erreger der Krankheit nachgewiesen worden ist, stellt sich die letztere als eine zur Zeit zum Ausbruch gekommene Epidemie dar.

Der Pilz an sich ist keine neue Erscheinung. Sein Auftreten kannte man schon seit längerer Zeit, aber in einer dem Baum unschädlichen Form, indem meistens nicht abgepflückte, vertrocknete Früchte von dem Pilz befallen wurden. Der Pilz hat sich aber nach und nach, wie viele andere saprophytische Pilze, in einen parasitären Charakter umgewandelt.

Das Krankheitsbild. Der Pilz befällt der Hauptsache nach Kirschbäume, speziell Sauerkirschen, aber auch bei anderen Obstarten treten ähnliche Symptome auf.

Das charakteristischste Merkmal ist die Zerstörung der Blüten. Meist erst, wenn die Blütenknospen sich geöffnet haben, oder der Baum im Abblühen begriffen ist, werden plötzlich die Blütenbüschel braun und trocken, so daß der Fruchtansatz verdorben ist. Schon am ersten Tage, wo sich die Krankheit zeigt, sieht man den Blütenstiel braun und trocken werden, weil er in seinem Inneren von dem Mycelium des Pilzes durchwuchert und abgetötet ist.

Auch an den Laubtrieben, welche aus den mit toten Blütenbüscheln besetzten Tragzweigen entspringen, tritt das Krankheitsbild deutlich hervor. Nach einigen Wochen welken die bis jetzt anscheinend gesund gebliebenen Blätter ab.

An der Grenze zwischen dem durch die Krankheit abgestorbenen und dem noch lebend gebliebenen Teile des Kirschenzweiges stellt sich gewöhnlich der Gummifluß ein. Diejenigen Zweige, welche von der Moniliakrankheit befallen, aber noch nicht abgetötet sind, werden in den folgenden Jahren wieder krank. Schließlich gehen die Bäume infolge mangelhafter Laubbildung zu Grunde.

Der Ausbreitung der Krankheit besonders günstig sind diejenigen Stellen, wo mehrere Kirschbäume zusammenstehen, hier ist in der Regel kein einziger Baum verschont geblieben; dagegen sehen wir diejenigen Kirschbäume, welche ganz vereinzelt, in größeren Entfernungen stehen, von der Krankheit verschont.

Das Mycelium der **Monilia** besteht aus langen Fäden, welche vorwiegend in der Längsrichtung parallel den Rindenzellreihen zwischen bezw. in diesen hineinwachsen. An den Mycelfäden fällt die Neigung zu reichlicher Septierung auf, besonders die dicksten Fäden zeigen viele Querwände. Die Dicke der Mycelfäden ist sehr wechselnd und beträgt 0,007—0,012 mm. Für die Zellen charakteristisch ist ihr reicher Gehalt an feinkörnigem Protoplasma; die feinen Körnchen bestehen aus Fettkügelchen, welche oft zu größeren Fetttröpfchen zusammenfließen.

Das Mycelium der **Monilia** tritt aus den Spaltöffnungen, aber auch direkt durch die Cuticula nach außen und geht unmittelbar in Sporenbildung über, indem es zu einer oft verzweigten Kette von Sporen auswächst. Die Sporen entstehen durch Abschnürung und fallen zuletzt auseinander, sie haben also den Charakter von Konidien. Der Modus der Sporenbildung ist aërogen, d. h. die oberste Spore sproßt an ihrer Spitze zu einer neuen Spore aus, wodurch die kettenförmigen Glieder entstehen. Die Größe der Sporen ist sehr variabel, die Länge beträgt zwischen 12—25 μ und die Breite 12—16 μ.

Die **Monilia**sporen keimen sehr leicht aus. In Pflaumen- und Kirschdekokt, sowie in sicilianischem Most erfolgt die Keimung schon nach wenigen Stunden, indem die Sporen sich zunächst vergrößern, während ihr Inhalt gleichzeitig stark lichtbrechend wird. Die Sporenmembran baucht sich an beliebiger Stelle aus, sehr bald tritt dann der äußerst kräftige, mit Protoplasma erfüllte Keimschlauch hervor, der schnell in die Länge wächst und bisweilen in 14 Stunden die Länge von 360 μ erreicht. Die Ausbildung der Querwände, sowie die Verzweigung findet schon wenige Stunden nach der Keimung statt.

Die Infektion der Kirschbäume durch die **Monilia** erfolgt offenbar durch die Konidien, die zu gewissen Zeiten im Jahre massenhaft auf den bereits kranken Teilen gebildet und durch die Luft verbreitet werden. Wie es scheint, ist namentlich die Narbe der Kirschblüte besonders leicht der Infektion zugänglich.

Gelegentlich ihrer Untersuchungen über die **Monilia**krankheit wurden die Verff. noch auf eine andere Krankheit der Kirschbäume aufmerksam. Es handelt sich ebenfalls um eine Pilzkrankheit, welche durch **Clasterosporium amygdalearum** verursacht wird, und hauptsächlich Süßkirschenbäume befällt. Der Pilz bringt an den grünen Blättern braune Spritzflecke hervor, welche bald vertrocknen und herausfallen, ein Loch im Blatte zurücklassend. Die Krankheit erscheint daher weniger bedenklich als die **Monilia**.

Die Bekämpfungsmittel der **Monilia**krankheit haben zunächst im Vernichten der Sporen zu bestehen. Die im Herbst an den Bäumen sitzen gebliebenen Früchte (auch der anderen Obstbäume) sollen entfernt werden; desgleichen sollen die kranken Zweige etc. sorgfältig herausgeschnitten werden.

Zur Vernichtung der Sporen wurden verschiedene, gegenwärtig gebräuchliche Kupferpräparate verwendet und geprüft, nämlich:

a) selbstbereitete Bordelaiser Brühe (2 Teile Kupfervitriol, 2 Teile Aetzkalk, 100 Teile destilliertes Wasser);

b) 6-proz. Kupferklebekalkbrühe;

c) 3-proz. Aschenbrand'sche Zuckerkupferkalkbrühe;
d) 2-proz. Souheurs Fostitebrühe und
e) 3-proz. selbstbereitete Zuckerkupferkalkbrühe.

24-stündiges Verweilen in diesen Brühen hatte die Keimkraft der Sporen vollständig vernichtet.

Die von den Verff. ausgeführten Bespritzungen der Kirschbäume hatten ergeben, daß die Herbst- bezw. die Winterbespritzungen wenig direkten Erfolg hatten, dagegen wurden die im Frühjahr behandelten Bäume entschieden weniger von der Monilia befallen, was besonders dann deutlich hervortrat, wenn die Bespritzung unmittelbar vor dem Aufbruch der Blüten stattgefunden hatte.

Reinmann (Hildesheim).

Ráthay, Emerich, Ueber eine Bakteriose von Dactylis glomerata L. (Sitzungsber. d. Akad. d. Wiss. Wien. Bd. CVIII. 1899. p. 597—602.)

Die auffallendsten Symptome der vom Verf. an Dactylis glomerata beobachteten Bakterienkrankheit liegen in der geringen Höhe der befallenen Exemplare und in dem gelben, schleimigen Ueberzug, der sich auf den obersten Blättern, den oberen Teilen des Halmes und in den Inflorescenzen auf Spelzen und Spindeln findet. Der Schleim enthält Bakterien, die sich abimpfen und auf Kartoffel kultivieren lassen. An den infizierten Pflanzenteilen ist eine Cuticula nicht nachweisbar, an Stelle der Chlorophyllkörner finden sich in den kranken Zellen nur kleine gelbe Körnchen. In späteren Stadien tritt der in Rede stehende Bakterienschleim auch in den Gefäßen und in den Intercellularräumen auf; wird das Grundgewebe von ihm durchsetzt, so erfolgt Auflösung der Mittellamellen: die Zellen isolieren sich.

Zur Charakterisierung des pathogenen Organismus giebt Verf. an, daß der gelbe Farbstoff weder in Wasser noch in Alkohol löslich ist und mit Schwefelsäure nicht die Lipochromreaktion giebt. Gelatine wird nicht verflüssigt. Die einzelnen Individuen sind kurz ellipsoidisch, offenbar geißellos und färben sich mit Loeffler's Methylenblau und nach Gram.

Infektionsversuche führten bisher noch zu keinem Resultate.

Küster (Halle a. S.).

Close, G. P., Treatment for gooseberry mildew. (Bull. New York Agr. Experiment Stat. CLXI. p. 153—164. Pl. I a. II.)

Der Stachelbeermehltau ist sehr schädlich in vielen Teilen der Vereinigten Staaten. Close experimentierte mit Bordeauxmischung, Lysol, Formalin und Kaliumsulphid. Von diesen ist Kaliumsulphid am besten für die Verhütung dieser Krankheit in den folgenden Proportionen: Kaliumsulphid, eine Unze in 2—3 Gallonen Wasser.

L. H. Pammel (Jowa).

De Stefani, Th., Due galle inedite e i loro autori. (Il Naturalista Siciliano. 1900. p. 1—3.) [S.-A.]

Diese Arbeit enthält die Beschreibung zweier neuer, in Sicilien gesammelter Gallen und ihrer Erzeuger. Die erste derselben wurde

auf Sonchus asper Wild. beobachtet und besteht in einer knotenförmigen bis spindelförmigen Verdickung des Stengels. Die von den Larven bewohnten Zellen liegen zerstreut in der Markschicht und haben eine fast eiförmige Gestalt mit wenig dicker Wand und gelblicher Farbe. Aus den im Juli gesammelten Gallen kamen die Erzeuger gegen Ende Februar und Anfang März zum Vorschein; sie werden als Aulax sonchi n. sp. beschrieben.

Die zweite Galle wird von einem zuerst in Algerien beobachteten Rüsselkäfer, Tychius argentatus Chevr. auf Scabiosa maritima L. hervorgebracht. Sie besteht ebenfalls aus einer Schwellung der Zweige und besonders der jüngeren Triebe; ihre Gestalt ist bald keulenförmig oder spindelförmig und zeigt dann eine Länge von $2-2^1/_2$ cm mit einem Durchmesser von 2 mm, bald kugelig mit einem Durchmesser von 4 mm. Jede Schwellung enthält gewöhnlich nur eine Larvenkammer mit etwas fleischiger Wandung. Der Erzeuger wurde gegen Ende Juli gezogen; zur selben Zeit zeigten sich schon Anfänge neuer Gallen, so daß die zweite Generation wahrscheinlich im September zum Vorschein kommt.

Kieffer (Bitsch).

Ewert, Verwüstungen einiger Tipula-Arten auf Wiesen. (Zeitschr. f. Pflanzenkrankh. 1900. p. 328.)

In der Nähe von Greifswald wurde im Frühjahr eine Wiese von mehreren Morgen Größe durch zahlreiche Larven von Tipula nigra und Tipula obracea so stark befallen, daß sie im Juli total verdorrt war und nur Schilf und Plantago maritima eine Ausnahme machten. Die Wiese ist zeitweiligen Ueberschwemmungen ausgesetzt. Benachbarte Wiesen waren nicht infiziert. Frank (Berlin).

Krüger, L., Insektenwanderungen zwischen Deutschland und den Vereinigten Staaten von Nordamerika und ihre wirtschaftliche Bedeutung. Herausgegeben vom entomologischen Vereine zu Stettin. Stettin (Kommissionsverlag von Friedländer in Berlin) 1899.

Das Krüger'sche Werk erhielt vom Stettiner Gartenbauvereine den Preis für ein von ihm gestelltes Ausschreiben, wonach festgestellt werden sollte, ob und in welchem Umfange bisher eine Einwanderung nordamerikanischer Insekten nach Deutschland und umgekehrt eine Auswanderung hiesiger nach dem anderen Kontinente stattgefunden hat, ferner wie weit die Wanderungen zur Akklimatisation geführt haben und endlich, welche Wirkung davon auf dem wirtschaftlichen Gebiete eingetreten ist. Durch eine Zusammenstellung der Litteraturangaben gelangt der Verf. zu folgendem Ergebnisse:

„1) daß bisher kein Fall einer Insekteneinschleppung aus den Vereinigten Staaten von Nordamerika nach Deutschland von wirtschaftlicher Bedeutung nachgewiesen werden kann;

„2) daß die klimatischen Verschiedenheiten beider Länder auch fernerhin eine derartige schadendrohende Einwanderung höchst unwahrscheinlich erscheinen lassen, so daß also im Grunde nichts übrig

bleibt, um in einen panischen Schrecken zu geraten, wie das jetzt bei dem Auftreten der San José-Schildlaus und früher beim Auftreten des Koloradokäfers geschehen ist."

Die Eigenart und der teilweise auf Hypothesen hinauslaufende Inhalt des Buches lassen es angezeigt erscheinen, ein Referat darüber nicht auf eine Wiedergabe der darin enthaltenen Angaben zu beschränken, sondern auch die Billigung, welche der unbefangene Leser sehr vielen Aeußerungen des Verf.'s erteilen muß, und die ebenfalls berechtigten Einwände gegen andere Punkte zur Geltung kommen zu lassen. Der Verf. hat zum ersten Male auf wissenschaftlicher Grundlage eine kritische Zusammenstellung der weit zerstreuten Notizen über einen der wichtigsten Gegenstände aus der ökonomischen Entomologie geliefert und damit nicht nur dem Laien eine Handhabe gegeben, um sich über diese Seite des Pflanzenschutzes tiefergehende Belehrung zu holen, sondern auch den Fachmann auf gar viele schwer zugängliche und wenig bekannte Quellen hingewiesen. Die kritische Betrachtungsweise und der gesunde Skepticismus, welche den Gedankengang des Krüger'schen Werkes durchziehen, sind sicherlich ein angenehmer Gegensatz zu den anspruchsvollen Doktrinen, welche zahlreiche Dilettanten und Halbwisser über die von diesen oder jenen Pflanzenschädlingen drohenden Gefahren in Druckerschwärze umgesetzt haben; möchte Krüger's Buch dazu beitragen, daß nach dieser Richtung hin wieder die Sachverständigen zu Worte kommen und ihre Worte Beachtung finden! Andererseits hat aber Ref. auch den Eindruck bekommen, daß sich Krüger dem Einflusse der handelspolitischen Anschauungen, welche in den Kreisen seiner Fragesteller herrschen, ohne es selbst zu wollen, nicht gänzlich hat entziehen können, so daß er beim Sichten der vorhandenen Thatsachen denen zu geringes Gewicht beilegte, welche von den in seinem Buche vorgetragenen Grundsätzen abweichen. Dabei möchte ich aber ausdrücklich darauf hinweisen, daß die ruhige und fast immer sachliche Schreibweise Krüger's weit über der wilden Agitation steht, welche gewisse, den Ausschreibern der Preisaufgabe nahestehende Kreise auf Grund einseitig von ihnen herausgezogener Sätze des Verf.'s in der Tagespresse entfesselt haben, wobei sich die Verff. dieser Artikel noch auf angebliche zustimmende Aeußerungen von Beteiligten berufen, die ihnen gegenüber nie gethan worden sind.

Eine genaue Besprechung widmet Verf. zuerst dem vielgenannten Aspidiotus perniciosus und behandelt zugleich die in mancher Hinsicht zu ihr in Beziehung tretenden A. ostreaeformis Curt. und Diaspis ostreaeformis Sign. Er giebt eine genaue und klare Darstellung der ungemein verwickelten Entdeckungsgeschichte und Synonymie letzterer beiden Arten, die hoffentlich veranlaßt, daß der überflüssige und unberechtigte Name Diaspis fallax Horv. künftig dem ursprünglichen Platz macht. Diaspis s. Aspidiotus Harrisi wird im Anschlusse an Morgan (1890) für synonym mit D. ostreaeformis erklärt, während Comstok sie 1880 zu A. furfurus Fitch zog. Ferner erfahren die argen Unklarheiten, welche noch heutzutage über die Bedeutung und Funktion der Filièren und über die Fortpflanzungsweise der Schildläuse bestehen, eine ausführ-

liche Besprechung, der sich eine Diskussion über die Möglichkeit einer gefahrbringenden Einwanderung der San José-Laus anschließt. K. hält aus physikalischen und biologischen Gründen es für ausgeschlossen, daß sie in Deutschland leben, sich vermehren und ausbreiten könnte. Wie K. bei seinen Ausführungen über diese Art sich hauptsächlich auf einen Vergleich der Merriam'schen Klima- und Lebenszonen mit den meteorologischen Verhältnissen Deutschlands stützt, thut er das Gleiche bei der nun folgenden Untersuchung über das Auftreten des Koloradokäfers in unserer Heimat. Auch hier schließt er wieder aus einer Gegenüberstellung der Klimatologie des amerikanischen Verbreitungsgebietes von Leptinotarsa decemlineata und der deutschen Fundorte sowie der knappen Beobachtungen über sein hiesiges Verhalten, daß die Befürchtungen einer gefahrbringenden Vermehrung und Ausbreitung bei uns unbegründet, die Kosten des „barbarischen" Vernichtungssystems also unnötig aufgewendet waren. Demgegenüber muß erstens festgelegt werden, daß die Giltigkeit der von den amerikanischen Biologen Allen, Merriam u. A. aufgestellten „Lebenszonen" für die Tierwelt, zumal für die höhere, durchaus nicht so unbestritten ist, wie K. anzunehmen scheint; ferner sei daran erinnert, daß bisher nichts gegen ein Fortschreiten beider Schädlinge in Nordamerika nach Norden spricht, daß insbesondere die Thatsache, daß die San José-Laus „hart an der Grenze der Transitionzone stehen geblieben ist", nichts weiter ist als eine vorläufige Feststellung, die gegen eine zukünftige Veränderung keinerlei Gewähr bietet. Während nämlich nach K.'s Darstellung die Life zones sich wie politisch abgegrenzte Gebiete mit scharfen Grenzlinien verhalten sollen, an denen sich ausgeprägte Gegensätze klimatischer Natur berühren, sind es in Wirklichkeit sehr verschwommene Komplexe, die sich in weiter Ausdehnung an ihren Berührungsstellen decken und dabei höchst ähnliche physische Erscheinungen aufweisen. Insbesondere darf man sich unter den Transitionzonen nichts weiter vorstellen, als was ihr Name sagt — ein Uebergangsgebiet zwischen dem kälteren und dem wärmeren Teile Nordamerikas, der klimatisch wie faunistisch im Norden mehr von jenem, im Süden mehr von diesem hat, ohne eine wirklich selbständige Ausprägung von Lebenserscheinungen. Darum kann ich dem Umstande keinerlei Gewicht beilegen, daß man Aspidiotus perniciosus kaum in der genannten Zone gefunden hat[1]), noch viel weniger die Annahme, daß er in ihr nicht leben könne, darauf gründen, daß infizierte Gewächse andauernd in jenes Gebiet eingeführt worden seien, ohne daß die

1) Die unbequeme Thatsache, daß dies bei Boston wirklich der Fall ist, erklärt K. „ungezwungen durch das hier in kurzer Strecke auftretende und noch sehr warme Küstenklima" (p. 26). Ref. muß gestehen, daß ihm diese Erklärung völlig unverständlich geblieben ist, denn ein für das ganze Jahr giltiges „Küstenklima" fehlt bekanntlich den atlantischen Staaten gänzlich, während im Sommer, der für unseren Fall gerade in Betracht kommt, die Sache genau umgekehrt liegt, als wie K. sie darstellt. Denn die Juli-Isothermen steigen in den Neu-Englandstaaten an der Küste herunter, so daß die Isotherme von Quebec hart nördlich an Boston vorbeigeht, infolgedessen man nur von einem kalten, nicht aber einem warmen Küstenklima sprechen darf, wie K. es thut. Der Fall des Vorkommens der San José-Laus bei Boston paßt also nicht im geringsten in das von K. aufgestellte Erklärungssystem hinein.

Ansiedlung zustande kam. K. läßt nämlich die Thatsache ganz außer Betracht, daß einzelne Staaten der Union wie auch Kanada (!) sich gegen die mögliche Einschleppung seit Jahren durch strenge Ueberwachungsvorschriften und sogar Einfuhrverbote gewehrt haben — Maßregeln, die teilweise an Rigorosität die verschrieene Bundesratsverordnung vom 5. Febr. 1898 noch übertreffen. Zum mindesten muß also der Nachweis verlangt werden, daß 1) ein bedrohliches Auftreten der San José-Schildlaus in solchen Staaten der Union, welche in den Australzonen liegen, trotz energischer Einfuhrverbote stattgefunden hat, daß 2) in solchen Gebieten der Transitionszone, wo keine Abwehrmaßregeln getroffen wurden, keine Ansiedelung des Schädlings erfolgt. Diese Seite des Bildes bedarf jedenfalls erst der Aufklärung, ehe man die Schlußfolgerungen K.'s in ihrer Gesamtheit anerkennen kann und ehe man die zur Abwehr der San José-Laus von der deutschen Reichsregierung getroffenen Maßregeln für überflüssig erklären darf.

Endlich aber muß das ganze Prinzip Bedenken erregen, wonach die klimatischen Erscheinungen des Verbreitungsgebietes einer Insektenart zugleich die allein giltigen Lebensbedingungen und Möglichkeiten zum Leben für dieses vorstellen, wie dies aus Krüger's Darlegungen immer wieder hervorgeht. Die Insekten leben nicht von Luft und Sonne, Wärme und Feuchtigkeit, sondern von mehr oder minder bevorzugten Nährpflanzen, und die bisherigen allgemeinen Kenntnisse von der Lebensamplitude der Kerfe deuten darauf hin, daß auch eine Verschiebung der klimatischen Bedingungen nach der unteren Grenze hin ihnen die Möglichkeit des Gedeihens nicht verschließt, sofern nur ihre Nährpflanzen gedeihen, zumal wenn man die sich geltend machende natürliche Auslese dazu kommen läßt. Deshalb sei nochmals betont, daß die Darlegungen Krüger's sehr wohl zutreffen können, daß aber für ihre Giltigkeit eben noch der Beweis e contrario zu erbringen ist. Was besonders den Kartoffelkäfer angeht, so sind die wenigen Beobachtungen, welche man aus äußeren Gründen über sein Fortkommen in Deutschland machen konnte, ganz unzulänglich, um daraus seine Harmlosigkeit als sicher hinzustellen. Sei dem, wie ihm wolle — das „schneidige“ und „barbarische“ System der Vernichtung einiger Kartoffeläcker und der Kostenaufwand von ca. 30000 Mark haben jedenfalls die deutsche Landwirtschaft davor bewahrt, den etwaigen Preis für die Gegenprobe auf das Exempel, wie sie die freihändlerische Gegenströmung in Gestalt des laissez aller verlangte, aus ihrer oder der Konsumenten Tasche bezahlen zu müssen.

Als dritte Art, für die eine Abstammung aus Amerika in Betracht kommen könnte, behandelt Verf. die Reblaus. Auch in diesem Falle kann Ref. sich mit verschiedenen Schlüssen Krüger's nicht einverstanden erklären, ohne daß natürlich an diesem Orte eine breitere Auseinandersetzung über den so verwickelten Gegenstand Platz finden kann. K. gelangt nach einer Darstellung des hypothetischen Entwickelungsganges der Phylloxera und nach flüchtiger Berührung der Diskussionen über die Bedeutung des Schmarotzers als Rebenkrankheit zu dem Schlusse, daß 1) gegründete Bedenken

gegen die Annahme der Importation der Phylloxera von Nordamerika bestehen, 2) gegründete Bedenken gegen die Reblaus als Ursache der Rebenkrankheit bestehen, 3) man alle Ursache hat, den Kampf gegen die Reblaus aufzugeben und rationelle Rebenkultur mit derselben energisch zu treiben. Von diesen Leitsätzen kann man dem ersten sicherlich zustimmen, ohne indessen der Frage heutzutage mehr als eine akademische Bedeutung zuzuerkennen. Dem zweiten dürfte heutzutage kaum ein unbefangener Beobachter sich anschließen, der nur einmal einen typischen Reblausherd gesehen hat — ganz abgesehen davon, daß K. die Bedeutung der Erfolge des Ueberschwemmungsverfahrens für diese Frage überhaupt mit Stillschweigen übergeht. Auch lehrt ein Blick in die Reblausdenkschriften, daß die Ausbreitung der Krankheit in ganz überwiegendem Maße im Anschlusse an schon bestehende Herde erfolgt, während sprungweises Auftreten die Regel sein müßte, wenn allein natürliche oder kulturelle Bedingungen die Ursache der Kalamität wären. Wenn K. ferner meint, daß das sporadische Auftreten der Reblaus in Nord- und Mitteldeutschland zeige, daß sie in diesen Gegenden nicht die ihr zusagenden Bedingungen finde und nur notdürftig ihr Leben friste, so glaube ich, eine viel näher liegende Ursache hierfür in der sporadischen Verbreitung des Weinstockes daselbst sehen zu dürfen; wo keine Reben sind, da fehlt natürlich auch die Reblaus. Außerdem zeugte die Art ihres Auftretens in der Provinz und im Königreich Sachsen, d. h. so ziemlich in ihrem nördlichsten Vorkommen, daß ihr Umgebung und Klima vortrefflich bekamen. Ob man endlich, wie Krüger's dritter Satz verlangt, „alle Ursache“ hat, den bisherigen Betrieb des Weinbaues aufzugeben, darüber mögen und können nur die Praktiker entscheiden. Es sei jedoch auf die Thatsache hingewiesen, daß der deutsche Weinbau dank der rechtzeitig und rücksichtslos durchgeführten Abwehrmaßregeln überhaupt noch keinen fühlbaren Schaden durch die Reblaus erlitten hat und daß die Kosten für die Amerikanisierung unserer Reben diejenigen bisher auf die Bekämpfung verwendeten weit in den Schatten stellen würden — ganz abgesehen von den Schwierigkeiten der Ausführung!

Im II. Teile des Buches behandelt K. noch einige wenige Insekten, denen eine Auswanderung von der neuen Welt nach der alten zugesprochen wird. Dahin gehören Periplaneta americana, deren erstes Erscheinen in deutschen Häfen einigen Schrecken hervorrief. Mit Recht setzt indessen K. auseinander, daß die große Schabe bei uns nicht die Bedingungen zur Ausbreitung und Fortpflanzung findet, was Ref. für Leipzig bestätigen kann. Weiterhin soll die Blutlaus ein Geschenk Amerikas an Europa sein, während unserem Autor zufolge alles dafür spricht, daß das Umgekehrte der Fall gewesen ist. Zu erwähnen bliebe nur noch Bruchus pisi, den K. von Amerika nach Europa verschleppt sein läßt; er soll ein Seitenstück zum Koloradokäfer und zur San José-Schildlaus und in Deutschland nicht gerade schädlich sein. Mit letzterer Ansicht dürfte Verf. wohl ziemlich allein stehen!

Breiten Raum nimmt sodann eine Besprechung der zahlreichen Insektenarten ein, die von der alten Welt über den Ozean herüber-

gelangt sind und sich angesiedelt haben. Diese Zusammenstellung des vielfach recht versteckten und zerstreuten Materials ist eine äußerst dankenswerte und die kritische Bearbeitung desselben durch den Verf. bildet einen hoch zu schätzenden Beitrag zur Vertiefung unserer ökonomisch-entomologischen Kenntnisse. In diesem Kapitel darf K. wohl der Zustimmung der Fachgenossen zu fast allen seinen Schlußfolgerungen gewiß sein, wenn auch seine Abneigung gegen die Bekämpfung der Schädlinge durch chemische Mittel über das Ziel hinaus schießt. Haben doch die Hoffnungen auf eine wirksame Thätigkeit der eingeführten Schmarotzerfeinde, wie Coccinelliden, sich in der Praxis als übereilt erwiesen. Die meiste Bedeutung hat die in den meisten vorgeführten Einzelfällen wiederkehrende Beobachtung, daß die von Europa, besonders von Mitteleuropa, eingeschleppten Insekten in den Vereinigten Staaten mit einer Vermehrungskraft, Widerstandsfähigkeit und Schädlichkeit auftreten, die z. B. in Deutschland bei ihnen nicht beobachtet worden ist. Die Erklärung hierfür giebt K. im Schlußkapitel der Arbeit, indem er versucht, die Resultate der bisherigen klimatologischen Forschungen auf jene Erscheinungen anzuwenden, d. h. zu zeigen, inwiefern die klimatischen Bedingungen für das Insektenleben in den Vereinigten Staaten günstiger sind als in Mitteleuropa. Arnold Jacobi (Berlin).

Entwickelungshemmung und Vernichtung der Bakterien etc.

Ludwig, Zur Bekämpfung der Schleimflüsse der Bäume. (Prakt. Blätter f. Pflanzenschutz. 1900. Jan.)

Im Anschlusse an Brecher's Mitteilung über die Bekämpfung der Schleimflüsse der Bäume hält Verf. ebenfalls sowohl gegen den weißen Schleimfluß der Eichen als auch gegen den braunen Schleimfluß der Obst- und Chausseebäume das Ausschneiden und Beseitigen der befallenen Stellen für das wichtigste Mittel, empfiehlt aber als unerläßlich, daß hinterher die Wunde mit Theer verschlossen werde, um der Ansiedelung der gefährlichen Wundparasiten (Polyporus etc.) zu verhüten. Frank (Berlin).

Appel, O., Vorbeugungsmaßregeln gegen das Ueberhandnehmen der Mäuse. (Illustr. landwirtschaftl. Ztg. Jahrg. XX. 1900. No. 25.)

— —, Wie schützen wir unsere Mistbeete und Frühjahrskulturen gegen Mäusefraß? (Gartenflora. Jhrg. XLIX. 1900. No. 7.)

Nach A.'s Erfahrungen hat die Bekämpfung der Mäuseplage mit Loeffler's Mäusebacillus dem Verlaufe der Naturvorgänge folgend im Herbste weitaus am meisten auf Stoppelfeldern neben Brachen und Kleeäckern im Freiland zu geschehen, während im Frühjahr auf das Auswandern der Mäuse an die abschüssigen Böschungen der Wege, nach Gebäuden, Schobern und anderen Asylen Rücksicht zu

nehmen ist. In Gärtnereien sind besonders Mistbeete und Gewächshäuser heimgesucht. Um zu erreichen, daß die Tiere trotz etwa vorhandener Leckerbissen, wie Räucherwaren und Mehl, doch an die Giftbrocken gehen, sind letztere mit einer aus Milch hergestellten Bakterienaufschwemmung zu tränken. Um diejenigen Fehler zu vermeiden, welche nach des Verf.'s Erfahrungen am häufigsten ein Mißlingen des Verfahrens herbeiführen, rät er zur Einhaltung folgender Grundsätze: Die Kulturen sollen erst dann gekauft werden, wenn sie benutzt werden sollen, und sind erst unmittelbar vor der Benutzung zu öffnen. Man unterlasse alle Versuche, den Inhalt des Kulturröhrchens zu lösen, da das einzig Wirksame der dünne Belag der Oberfläche des Nährbodens ist. Alle fremden Zusätze unterbleiben, die einmal angemachte Flüssigkeit kann nicht aufgehoben werden; sie ist meist schon nach einem Tage verdorben.

Arnold Jacobi (Berlin).

Kornauth, K., Weitere Erfahrungen über die Bekämpfung der Feld-, Wühl- und Hausmäuse mittels des Loeffler'schen Mäusetyphusbacillus. (Zeitschr. f. d. landwirtschaftl. Versuchswesen in Oesterreich. 1900. Heft 2. p. 10.)

In Oesterreich ist schon seit längerer Zeit die Frage der Bekämpfung der Mäuseplage durch den Loeffler'schen Mäusetyphusbacillus behördlicherseits in Angriff genommen worden. Das bakteriologische Laboratorium der landwirtschaftlich-chemischen Versuchsstation in Wien ist zu diesem Zwecke ermächtigt, Kulturen zu billigem Preise abzugeben und die Erfolge zusammenzustellen. Dank dieser Vorsorge sind im Jahre 1899 20471 Kulturen zur Anwendung durch 468 Parteien gekommen und waren die meisten Kronländer beteiligt. Soweit die den Sendungen beigelegte Fragekarte benutzt wurde, ergab sich, daß 68,2 Proz. der Anwendungen einen guten, 21 Proz. wenig und 10 Proz. keinen Erfolg hatten. In den beigegebenen Tabellen sind die einzelnen Angaben, aus denen sich diese prozentische Berechnung ergiebt, getrennt in die 3 Gruppen: Feldmäuse, Wühlmäuse und Hausmäuse, zusammengestellt.

Die Fehlresultate, die, wenn auch nicht in hohem Prozentsatze, zu verzeichnen waren, führt der Autor, wohl mit Recht, auf nicht genügend exakte Anwendung zurück, ist aber im allgemeinen der Ansicht, daß die bakteriologische Methode der Bekämpfung der Haus- und Feldmäuse und höchst wahrscheinlich auch der Wühlmäuse eine vollberechtigte und den Vergiftungsmethoden mindestens gleichwertig ist.

Appel (Charlottenburg).

Neue Litteratur,

zusammengestellt von
San.-Rat Dr. Arthur Würzburg,
Bibliothekar im Kaiserl. Gesundheitsamte in Berlin.

Untersuchungsmethoden, Instrumente etc.

Debrand, L., Note sur un nouvel appareil à contention. (Annal. de l'Instit. Pasteur. 1900. No. 4. p. 249—256.)
Latham, V. A., A useful method of staining. (Journ. of applied microsc. 1900. No. 1. p. 674—675.)
Neuberger, J., Ein einfaches Schulmikrotom. (Ztschr. f. wissenschaftl. Mikrosk. Bd. XVII. 1900. Heft 1. p. 1—6.)
Potter, Ch. H., Practicable microphotography. (Journ. of applied microsc. 1900. No. 1. p. 683—685.)
Savage, G. H., A filter for microchemical analysis. (Journ. of applied microsc. 1900. No. 1. p. 678—680.)
Woodford, R. P., To prevent sections from drying. (Journ. of applied microsc. 1900. No. 1. p. 666.)

Systematik, Morphologie und Biologie.

Ariola, V., Notizie sopra alcuni Botriocefali del Museo universitario di Copenhagen. (Bollett. d. musei zool. ed anat. comp. di Genova. 1899. No. 89.)
Casali, C., Contribuzione alla conoscenza della flora micologica avellinese. (Estr. d. Bullett. d. soc. botan. ital. 1900. 14. Gennaio. p. 20—29.) gr. 8°.
Epstein, St., Untersuchungen über Milchsäuregärung und ihre praktische Verwertung. (Arch. f. Hygiene. Bd. XXXVII. 1900. Heft 4. p. 329—359.)
Friedenthal, H., Beiträge zur Kenntnis der Fermente. (Arch. f. Physiol. 1900. Heft 3/4. p. 181—194.)
Johnson, W. G., The destructive pea louse, a new and important economic species of the genus Nectarophora. (Proceed. of the 11. annual meet. of the assoc. of economic entomol. U. S. Departm. of Agricult., Divis. of entomol. N. S. Bullet. No. 20. Washington 1899. p. 94—99.)
Klebahn, H., Beiträge zur Kenntnis der Getreideroste. II. (Ztschr. f. Pflanzenkrankh. Bd. X. 1900. Heft 2. p. 70—96.)
Kuntze, W., Ein Beitrag zur Kenntnis der Bedingungen der Farbstoffbildung des Bacillus prodigiosus. (Ztschr. f. Hygiene etc. Bd. XXXIV. 1900. Heft 1. p. 169—184.)
Kurimoto, T., Diplogonoporus grandis (R. Blanchard). Beschreibung einer zum ersten Male im menschlichen Darm gefundenen Art Bothriocephalus. (Ztschr. f. klin. Med. Bd. XL. 1900. Heft 1/2. p. 1—16.)
Matruchot, L. et **Dassonville, Ch.**, Sur le Ctenomyces serratus Eidam, comparé aux champignons des teignes. (Bullet. de la soc. mycol. de France. 1899. Fasc. 4. p. 305—310.)
Maurizio, A., Beiträge zur Biologie der Saprolegnieen. (Ztschr. f. Fischerei. Jahrg. VII. 1899. Heft 2.) gr. 8°. 66 p. Berlin 1900.
Planchon, L., Influence de divers milieux chimiques sur quelques champignons du groupe des Dématiées. (Annal. d. scienc. natur. Botan. T. XI. 1900. No. 1. p. 1—64.)
Ritter, C. u. **Rübsaamen, E. H.**, Die Reblaus und ihre Lebensweise. Dargestellt auf 17 Taf. (in Fol.), nebst erklär. Text. gr. 8°. 31 p. Berlin (R. Friedländer & Sohn) 1900. 8 M.
de Saint-Joseph, Note sur une nouvelle famille d'annélides polychètes (Pilargidiens). (Bull. d. mus. hist. nat. Paris. T. V. 1899. No. 1. p. 41—42.)
Saint-Remy, G., Sur le développement embryonnaire des cestodes. (Compt. rend. de l'acad. d. scienc. T. CXXX. 1900. No. 14. p. 930—932.)
Schultz, O., Filarien in paläarktischen Lepidopteren. (Illustr. Ztschr. f. Entomol. 1900. No. 10. p. 148—149.)

Stragapede, D., Primo studio dell' influenza dei fermenti sulla fermentazione, sulla costituzione chimica e sul carattere dei vini. (Bollett. di notizie agrar. 1900. No. 5. p. 230—246.)

Beziehungen der Bakterien und Parasiten zur unbelebten Natur.

Luft und Wasser.

Amsler, G., Ueber das bakteriologische Verhalten des Schinznacher Thermalwassers. (Korrspdzbl. f. Schweiz. Aerzte. 1900. No. 9. p. 263—269.)

Hilsum, M., Bakteriologische Untersuchung eines Schwimmbades in Bezug auf Selbstreinigung. (Centralbl. f. Bakteriol. etc. I. Abt. Bd. XXVII. 1900. No. 18/19. p. 661—670.)

Schaer, E., Zur Frage der hygienischen Bedeutung der Nitrite im Trinkwasser. (Ber. d. dtsch. chem. Gesellsch. 1900. No. 8. p. 1232—1236.)

Nahrungs- und Genußmittel im allgemeinen, Gebrauchsgegenstände.

Ghiglione, C., Contributo alla ricerca dell' arsenico mediante la prova biologica del Gosio nei colori delle tappezzerie, fiori artificiali, stoffe, carte colorate. (Riv. d' igiene e san. pubbl. 1900. No. 8. p. 274—280.)

Fleisch.

Glage, Ueber das sogenannte Beschlagen des Fleisches. (Ztschr. f. Fleisch- u. Milchhygiene. 1900. Heft 8. p. 144—147.)

Marano, S., Sul trattamento delle carni suine leggermente panicate. (Giorn. d. r. soc. ital. d'igiene. 1900. No. 4. p. 145—154.)

Milch, Molkerei.

Winter, A., Ueber Milchsterilisation. (Jahrb. f. Kinderheilk. Bd. I. 1900. Heft 5. p. 517—530.)

Zammit, T., Milk poisoning in Malta. (Brit. med. Journ. 1900. No. 2054. p. 1151—1152.)

Wein, Weinbereitung.

Dugast, J., Vinification dans les pays chauds. Paris (Carré et Naud) 1900. 5 fr.

Andere Nahrungs- und Genußmittel.

Gründler, P., Zwei Getreideschädlinge des Kornbodens. (Amtsbl. d. Landwirtschaftskammer f. d. Reg.-Bez. Kassel. 1900. No. 10. p. 74—75.)

Wohnungen, Abfallstoffe etc.

Czaplewski, Ueber die Wohnungsdesinfektion mit Formaldehyd in Köln. (Centralbl. f. allg. Gesundheitspfl. 1900. Heft 1/2. p. 15—18.)

Beziehungen der Bakterien und Parasiten zu Pflanzen.

Krankheitserregende Bakterien und Parasiten.

van Breda de Haan, J., Levensgeschiedenis en bestrijding van het tabaks-aaltje (Heterodera radicicola) in Deli. 4°. Amsterdam (J. H. de Bussy) 1900. 1 fl.

Casali, C. e Ferraris, T., Il mal della California in provincia di Avellino. [Nota preliminare.] (Estr. d. Giorn. di viticolt. e di enolog. Anno VIII.) gr. 8°. 12 p. Avellino 1900.

Fleischer, E., Ueber Wasch- und Spritzmittel zur Bekämpfung der Blattläuse, Blutläuse und ähnlicher Pflanzenschädlinge. (Ztschr. f. Pflanzenkrankh. Bd. X. 1900. Heft 2. p. 65—70.)

Howard, L. O., The present status of the caprifing experiments in California. (Proceed. of the 11. annual meet. of the assoc. of economic entomol. U. S. Departm. of Agricult., Divis. of entomol. N. S Bullet. No. 20. Washington 1899. p. 28—35.)

Iwanoff, K. S., Die im Sommer 1898 bei Petersburg (Rußland) beobachteten Krankheiten. (Ztschr. f. Pflanzenkrankh. Bd. X. 1900. Heft 2. p. 97—102.)

Jahresbericht des Sonderausschusses für Pflanzenschutz 1899. Zusammengestellt von **Frank** u. **Sorauer**. (Arb. d. dtsch. Landwirtsch.-Gesellsch. 1900. Heft 50.) gr. 8°. XII, 258 p. Berlin 1900.

Relazione sullo stato della infezione fillosserica e sui provvedimenti attuati nel 1898 contro la fillossera, presentata dal Ministro di Agricoltura etc. nella seduta del 1. dicembre 1899. (Camera dei Deputati.) 4°. 273 p. Roma 1899.

Ritzema Bos, J., De San José-Schildluis. — Wat wij van haar te duchten hebben, en welke maatregelen met't oog daarop dienen te worden genomen. (Tijdschr. over plantenziekten. 1899. aflev. 2—6. p. 33—96, 97—127, 145—167.)

Rodigas, E., De wollige bloedluis. (Tijdschr. over boomteeltkunde. 1900. p. 18.)

Santi, A., La Toscana vinicola del 1899 in rapporto alla cura della peronospora. 8°. Bagno (S. Piero) 1900.

Schimper, W. W., Koolrupsen (Pieris Brassicae L.). (Tijdschr. over plantenziekten. 1899. aflev. 1. p. 1—12.)

v. Schrenk, H., Disease of Taxodium known as peckiness; similar disease of Librocedrus decurrens. 8°. 56 p. London (Wesley) 1900. 2 sh. 6 d.

Soresi, G., Sui modi di impedire la diffusione della Diaspis pentagona del gelso. 8°. Milano 1900.

Staes, G., Over door roest veroorzaakte schade. (Tijdschr. over plantenziekten. 1899. aflev. 1. p. 25—29.)

— —, De Bordeauxsche pap. Kleefkracht van verschillende mengels. Werking op gezonde aardappelen. (Ibid. aflev. 3/4. p. 130—134.)

v. Tubeuf, Die Graphiola-Krankheit der Palmenblätter. (Gartenflora. 1900. Heft 6. p. 148—150.)

v. Tubeuf, C., Aufruf zur allgemeinen Vernichtung des Birnenrostes. 4 p. m. z. T. farb. Abbildgn. — Biologie, praktische Bedeutung und Bekämpfung des Kirschenhexenbesens. 4. p. m. z. T. farb. Abbildgn. (Flugblätter des kaiserl. Gesundheitsamtes. Biolog. Abt. f. Land- u. Forstwirtschaft. No. 3, 4.) gr. 8°. Berlin (Paul Parey — Julius Springer) 1900. 0,15 M.

Weifs, Die schwarze Kirschblattwespe (Eriocampa adumbrata Kl.). (Prakt. Blätter f. Pflanzenschutz. 1900. Heft 3. p. 17—18.)

— —, Die Bekämpfung des echten Mehltaues und der Blattfallkrankheit der Reben durch eine Arbeit. (Ibid. Heft 4. p. 26—27.)

Weifs, Die Vertilgung der Feldmäuse. (Prakt. Blätter f. Pflanzenschutz. 1900. Heft 4. p. 25—26.)

Weifs, Gegen die Schrotschuß- oder Blattlöcherkrankheit des Steinobstes. (Prakt. Blätter f. Pflanzenschutz. 1900. Heft 4. p. 27—28.)

Zimmermann, A., De nematoden der koffiewortels. II. De kanker (Rostrellaziekte) van Coffea arabica. (Mededeel. uit's Lands plantentuin.) gr. 8°. 62 p. Batavia 1900.

Zürn, E. S., Die Mistel, ein schädlicher Pflanzenschmarotzer auf Wald- und Obstbäumen. (Prakt. Blätter f. Pflanzenschutz. 1900. Heft 3, 5. p. 19—21, 34—35.)

Zukal, H., Untersuchungen über die Rostpilzkrankheiten des Getreides in Oesterreich-Ungarn. (I. Reihe.) (Ztschr. f. Pflanzenkrankh. Bd. X. 1900. Heft 1. p. 16—21.)

Entwickelungshemmung und Vernichtung der Bakterien.

Bolm, Fr., Welche Anforderungen sind an den Schwefel als Kampfmittel gegen das Oïdium zu stellen? (Mitteil. üb. Weinbau u. Kellerwirtsch. 1900. No. 3. p. 36—39.)

Heerma van Voss, A. J., Ueber die Anwendbarkeit der Fluorverbindungen zur Verhinderung der Gärung auf der Diffusionsbatterie. (Ztschr. d. Vereins d. dtsch. Zucker-Industrie. 1900. Lfg. 531. p. 438—440.)

Kelhofer, Antioïd. (Schweiz. Ztschr. f. Obst- u. Weinbau. 1900. No. 5. p. 66.)

Mac Fadyen, A., On the influence of the temperature of liquid air on bacteria. (Lancet. 1900. No. 12. p. 849.)

Raab, O., Ueber die Wirkung fluorescierender Stoffe auf Infusorien. (Ztschr. f. Biologie. Bd. XXXIX. 1900. Heft 4. p. 524—546.)

Schellenberg, H., Antioïd als Bekämpfungsmittel der Peronospora. (Schweiz. Ztschr. f. Obst- u. Weinbau. 1900 No. 5. p. 65.)

Schott, A., Ueber die Anwendbarkeit des Formaldehyds zur Verhinderung der Zersetzung von Zuckerlösungen. (Ztschr. d. Vereins d. dtsch. Zucker-Industr. 1900. Lfg. 531. p. 434—437.)

Inhalt.

Original-Mitteilungen.

Referate.

Entwickelungshemmung und Vernichtung der Bakterien etc.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.

CENTRALBLATT
für
Bakteriologie, Parasitenkunde u. Infektionskrankheiten.

Zweite Abteilung:
Allgemeine, landwirtschaftlich-technologische Bakteriologie, Gärungsphysiologie, Pflanzenpathologie und Pflanzenschutz.

In Verbindung mit
Prof. Dr. **Adametz** in Wien, Prof. Dr. **J. Behrens** in Karlsruhe i. B., Prof. Dr. **M. W. Beijerinck** in Delft, Geh. Regierungsrat Prof. Dr. **A. B. Frank** in Berlin, Dr. **v. Freudenreich** in Bern, Privatdocent Dr. **Lindau** in Berlin, Prof. Dr. **Lindner** in Berlin, Dr. **Morris**, Chef des Hansen-Laboratory, Jenner-Institute of Preventive Medicine in London, Prof. Dr. **Müller-Thurgau** in Wädensweil, Dr. **Erwin F. Smith** in Washington, D. C., U. S. A., Prof. Dr. **Stutzer** in Breslau, Prof. Dr. **Wehmer** in Hannover, Prof. Dr. **Weigmann** in Kiel und Prof. Dr. **Winogradsky** in St. Petersburg

herausgegeben von

Dr. O. Uhlworm in Cassel

und

Prof. Dr. Emil Christian Hansen in Kopenhagen.

Verlag von Gustav Fischer in Jena.

VI. Bd. Jena, den 30. Juli 1900. **No. 14.**

Jährlich erscheinen 26 Nummern. Preis für den Band (Jahrgang) 20 Mark.
Preis für eine einfache Nummer 75 Pfg., für eine Doppelnummer 1 Mark 50 Pfg.
Nummern mit Tafeln kosten für jede Tafel 50 Pfg. mehr.
Hierzu als regelmäßige Beilage die Inhaltsübersichten der I. Abteilung des Centralblattes.

Wünsche wegen Lieferung von besonderen Abdrücken wollen die Herren Mitarbeiter auf die Manuskripte schreiben oder bei Rücksendung der ersten Korrekturabzüge der Verlagsbuchhandlung mitteilen.

Original-Mitteilungen.

Nachdruck verboten.

Künstliche Ueberführung der Knöllchenbakterien von Erbsen in solche von Bohnen (Phaseolus).

[Mitteilung der kgl. pflanzenphysiologischen Versuchsstation zu Tharand.]

Von **F. Nobbe** und **L. Hiltner.**

Mit einer Tafel.

Die aus unseren Versuchsergebnissen abgeleitete Anschauung, daß die Knöllchenbakterien der verschiedenen Leguminosengattungen

trotz der von uns nachgewiesenen, meist strengen Beschränkung ihrer Wirksamkeit auf die gleichnamige oder nahe verwandte Gattung nicht verschiedene Bakterienarten, sondern lediglich Anpassungsformen einer und derselben Species, des Bacterium radicicola Bey., darstellen[1]), hat bisher unter den Fachgenossen eine allgemeine Anerkennung noch nicht gefunden. Auch wir selbst konnten uns nicht verhehlen, daß ein zwingender Beweis für die Richtigkeit dieser Anschauung erst gegeben sein werde, wenn es gelang, künstlich eine dieser Bakterienformen in eine andere von abweichendem biologischen Verhalten überzuführen.

Zum Zwecke einer solchen Ueberführung leiteten wir 1898 einen Versuch ein, bei welchem Pisum sativum und Phaseolus vulgaris in mehreren übereinstimmenden Reihen teils mit Reinkulturen ihrer eigenen Bakterien, teils mit gegenseitigem Materiale, geimpft wurden. Die Wahl gerade dieser beiden Leguminosen geschah aus zwei Gründen: 1) weil wir in den vorhergehenden Jahren wiederholt beobachtet hatten, daß bei gegenseitiger Impfung von Bohnen und Erbsen stets eine Bildung von Wurzelknöllchen, welche jedoch in der Regel inaktiv blieben, eintrat, und 2) weil sich die Bakteroiden aus Knöllchen von Erbsen und Bohnen durch ihre Form auffallend voneinander unterscheiden. Bei der Erbse bilden sie die bekannte Gabelung, bei der Bohne dagegen sind sie stets nur in die Länge gestreckt. Durch die getroffene Wahl konnte mithin zugleich die Frage erörtert werden, ob bei gegenseitiger Impfung eine Veränderung der Bakteroidenform eintritt oder nicht, d. h. ob die Gestalt der Bakteroiden von der Herkunft des Impfstoffs oder von der Art der Wirtspflanze abhängig ist.

Für die Thatsache, daß durch Impfung von Bohnen mit Erbsenbakterien oder umgekehrt von Erbsen mit Bohnenbakterien stets eine mehr oder minder reichliche Knöllchenbildung veranlaßt wird, ist zur Erklärung die Beobachtung heranzuziehen, daß beide, namentlich aber die Bohne, leichter als manche andere Leguminosengattungen durch Bacterium radicicola aus fremden Wurzelknöllchen infizierbar sind; andererseits scheint sie aber dafür zu sprechen, daß die Erbsen- und Bohnenbakterien in einigermaßen verwandtschaftlichen Beziehungen stehen. Allerdings ist diese Verwandtschaft bei weitem nicht so nahe, wie sie z. B. zwischen den Bakterien von Erbsen und Wicken besteht, wo sich die gegenseitige Vertretbarkeit nicht auf die Bildung von Knöllchen beschränkt, sondern wo letztere auch an der ungleichnamigen Wirtspflanze fast ebenso wirksam werden, wie an der Ursprungspflanze. Sowohl bei Bohnen wie bei Erbsen haben wir bei gegenseitiger Impfung nur sehr selten eine schwache Wirksamkeit der Knöllchen, welche nicht durch Bakterien der eigenen Art erzeugt waren, hervortreten sehen.

Lediglich zur Gewinnung des erforderlichen Impfmaterials wurde im Sommer 1898 in einem sterilisierten, stickstoffarmen Gemisch von 400 g Erde und 4800 g Glassand in verschiedenen Töpfen Phaseo-

1) Landw. Versuchsstationen. Bd. XXXVIII. p. 324; Bd. XXXIX. p. 327; Bd. XV. p. 155; Bd. XLVII. p. 257 etc.

lus vulgaris herangezogen. Einsaat am 22. Juni. Zwei Töpfe wurden am 15. Juli mit Reinkulturen der Knöllchenbakterien von Phaseolus vulgaris, zwei andere mit solchen von Pisum sativum geimpft; zwei Töpfe blieben ungeimpft. Während das Wachstum der mit Erbsenbakterien geimpften Bohnenpflanzen bis zuletzt sich in nichts von dem der ungeimpften unterschied, indem in beiden Versuchsreihen dauernd Stickstoffhunger herrschte, erfuhren die mit Bohnenbakterien geimpften Bohnenpflanzen eine ganz außerordentliche Förderung ihres Wachstums, wie folgende Zusammenstellung der Ende September gewonnenen Erntemassen (pro Topf) ergiebt:

Impfung mit Bakterien aus:	Trockensubstanz	Stickstoff absolut	Stickstoff in Proz. der Trockensubstanz
	g	mg	
Bohnenknöllchen	22,63	732	3,24
Erbsenknöllchen	a)[1] 7,67	193	2,52
	b) 6,21	88	1,42
ungeimpft	a)[1] 9,49	265	2,79
	b) 6,33	99	1,56

Beim Auswaschen der Bohnenwurzeln im Herbste 1898 erwies sich, daß dieselben in den beiden ungeimpften Töpfen vollständig knöllchenfrei geblieben waren, während die mit Bohnenbakterien geimpften zahlreiche kräftige, normal entwickelte Knöllchen besaßen. Die Erbsenbakterien hatten zwar ebenfalls sehr zahlreiche, aber nur kleine Knöllchen erzeugt.

Aus diesen letzteren Knöllchen wurden in üblicher Weise Reinkulturen herangezüchtet, welche sich in Bezug auf die Schnelligkeit des Wachstums auf Gelatine, im morphologischen Verhalten etc. in nichts von gewöhnlichen Erbsen- oder Bohnenbakterien unterschieden. Durch oftmalige Uebertragung wurde die Kultur dieser an Bohnenwurzeln entwickelten Erbsenbakterien, welche der Kürze halber im Folgenden als „Kreuzungsbakterien“ bezeichnet werden, bis zum Frühjahr 1899 frisch erhalten.

Der eigentliche Versuch begann im Mai 1899. Je 7 vierlitrige Blumentöpfe wurden mit einer Mischung von $^3/_4$ Vol. Glassand und $^1/_4$ Vol. Gartenerde gefüllt und diesem Medium pro Topf 6 g $Ca_3(PO_4)_2$, 1 g KCl, 0,8 g $MgSO_4$, 0,8 g KH_2PO_4 und 2 g $Fe_2(PO_4)_2$ zugesetzt.

Nach der Sterilisierung der mit Watte bedeckten Töpfe durch dreimaliges Erhitzen im Dampfapparat wurde am 2 Juni jeder Topf der ersten (Erbsen-)Reihe mit 7 Keimlingen von Pisum sativum, der zweiten (Bohnen-)Reihe mit 8 Keimlingen von Phaseolus vulgaris bepflanzt. Nachdem die Pflänzchen sich etwas entwickelt hatten, wurde die Impfung ausgeführt. In beiden Reihen, bei Erbsen wie Bohnen, wurden Topf 1 und 2 mit reinen Bohnenbakterien, Topf 3 und 4 mit reinen Erbsenbakterien, Topf 5 und 6 mit „Kreuzungsbakterien“ geimpft. Topf 7 blieb ungeimpft. Die Impfung er-

1) Die mit a) bezeichneten Töpfe haben am 8. Sept. eine Zugabe von 1 g bezw. — bei ungeimpften — 0,25 g Stickstoff in Form von KNO_3 erhalten.

folgte in der Weise, daß 25 ccm einer Bakterienemulsion von möglichst gleicher Stärke in 1—2 cm Tiefe auf die Pflanzen verteilt, etwas später weitere 25 ccm durch die bis in halbe Gefäßhöhe in den Boden eingeführte Begießröhre zugegossen wurden. Die Töpfe wurden — durch Begießen mit ausgekochtem destillierten Wasser — stets auf gleichem Gewicht erhalten. Feuchtigkeitsgehalt 60 Proz. der wasserhaltenden Kraft des Bodens.

Nachstehend erfolgen zunächst einige Auszüge aus dem Protokollbuche.

30. Juni. Erbsen. Alle Pflanzen hungern stark: No. 3 und 4 (Impfung mit reinen Erbsenbakterien) am wenigsten; ungeimpft am stärksten.

Bohnen. Hungererscheinungen nicht wahrnehmbar.

5. Juli. Erbsen. Die Impfwirkung hat entschieden begonnen. Es tritt dies weniger auffallend in einer verschiedenen Höhe, als in ungleicher Färbung und Kraft der jüngsten Stammglieder und Blätter hervor. Nach ihrer Stammhöhe gruppieren sich heute die Erbsenpflanzen im Mittel folgendermaßen:

Impfung mit	Bohnenbakterien		Erbsenbakterien		Kreuzungsbakterien		ungeimpft
Topf No.	1	2	3	4	5	6	7
	450	470	515	503	490	490	447 mm
Mittel	460		509		490		447 „

Bohnen. Alle Pflanzen bläßlich; es scheint der Hungerzustand zu beginnen. Wesentliche Entwickelungsunterschiede sind in den einzelnen Reihen nicht zu verzeichnen.

16. Juli. Erbsen. Es zeigt sich jetzt in voller Entschiedenheit Folgendes: Die mit Bohnenbakterien geimpften Pflanzen sind den ungeimpften gleich: blaß, niedrig, dürftig. Die mit „Kreuzungsbakterien" geimpften stehen nicht hinter den mit Erbsenbakterien geimpften zurück, kaum daß sie vielleicht einen leisen Schein minder dunkelgrün sind. In der Höhe kommen letztere beiden ganz überein.

Bohnen. Heute ist zum ersten Male ein zweifelloser Unterschied zu konstatieren. Die mit Bohnenbakterien geimpften Pflanzen sind durch dunkelgrüne Farbe charakterisiert; der Hungerzustand ist überwunden; dann folgen die mit Kreuzungsbakterien geimpften. Die mit reinen Erbsenbakterien geimpften Bohnen sind dagegen denen des ungeimpften Topfes nicht überlegen, die betreffenden Pflanzen hungern noch nach Stickstoff. Die Bohnen stehen im zeitlichen Beginn der Impfwirkung überhaupt den Erbsen nach; bei letzteren ist die Wirkung der Erbsenbakterien etwa am 21. Tage, bei den Bohnen die der Bohnenbakterien am 33. Tage nach der Impfung sichtbar hervorgetreten. Das eigentliche Hungerstadium aber umfaßt dort wie hier nur etwa 10—12 Tage.

22. Juli. Bohnen. Seit dem 20. Juli (gegen Abend) macht sich eine Wirkung der Kreuzungsbakterien geltend; dieselbe ist heute bereits ziemlich bedeutend, indem namentlich die oberen Blätter in beiden Töpfen dunkelgrün sind. Die Wirkung der Kreuzungsbakterien trat also 37 Tage nach der Impfung ein, d. i. 4 Tage später, als bei den Bohnenbakterien. Die reinen Erbsenbakterien sind bisher auf die Bohnen unwirksam geblieben.

24. Juli. Bohnen. Die Entwickelung unter Einwirkung der Kreuzungsbakterien nimmt in erstaunlicher Weise zu. Von oben her lassen sich diese Töpfe von den mit reinen Bohnenbakterien geimpften kaum noch unterscheiden. Nur das gänzliche Fehlen der (abgefallenen) Primordialblätter deutet auf den überwundenen Hungerzustand zurück.

Erbsen. Die mit den Kreuzungsbakterien geimpften Pflanzen stehen nur in der Farbe etwas hinter den dunkelgrünen der authentisch geimpften zurück. Die Zahl der abgestorbenen Blattfiedern giebt einen Anhalt für die Dauer und Nachwirkung des Hungerzustandes; es sind bis heute abgefallen:

Impfung mit	Bohnen-bakterien		Erbsen-bakterien		Kreuzungs-bakterien		ungeimpft
Topf No.	1	2	3	4	5	6	7
Pflanze 1	10	10	5	5	10	6	11
„ 2	10	10	4	4	8	6	11
„ 3	10	10	5	4	7	7	11
„ 4	10	10	6	4	9	6	12
„ 5	10	10	4	4	7	6	11
„ 6	10	11	4	5	8	5	11
„ 7	11	10	5	—	7	6	11
Mittel	10,1	10,1	4,9	4,5	8,0	6,0	11,1
	10,1		4,7		7,0		11,1

Betrachten wir nun etwas näher

1. die Ergebnisse der Erbsenimpfung.

Die Ernte der Erbsen fand am 10. August (Topf 1, 3, 5) bezw. am 25. August (Topf 2, 4, 6, 7) statt, nachdem sie am erstgenannten Datum anfingen zu reifen, am letztgenannten völlig ausgereift sind.

Topf 1 und 2 (Impfung mit Bohnenbakterien). Zu einer Wirkung ist es bei den Erbsen bis zuletzt nicht gekommen. Am 10. August sind nur noch die obersten Spitzen der Pflanzen schwach grün, während die mit Erbsenbakterien geimpften am 10. August noch ziemlich grün sind. Am 25. August sind auch diese Pflanzen der Reife sehr nahe.

Ein anschauliches Bild der Impfwirkungen gewinnt man aus der durchschnittlichen Höhe, der Blattzahl der 7 Pflanzen, sowie aus der Zahl der pro Topf geernteten Früchte und Samen.

Impfung mit:	Höhe mm pro Pflanze	Blattzahl pro Pflanze	Früchte pro Topf	Samen pro Topf
Bohnenbakterien	888	18	11,5	8,0
Erbsenbakterien	1144	19	28,0	108,5
Kreuzungsbakterien	1146	18	26,0	59,0
ungeimpft	891	17	7,0	9,0

Die chemische Analyse der produzierten Erbsenernte steht mit dem morphologischen Befunde im Einklange. Es wurde an oberirdischen Organen geerntet:

Topf No.	Impfung mit:	Trockensubstanz (g)		Stickstoff (mg)	
1	Bohnenbakterien	5,27	5,29	75	76,5
2		5,30		78	
3	Erbsenbakterien	22,22	24,03	693	743
4		26,84		792	
5	Kreuzungsbakterien	15,29	16,78	337	366
6		18,27		394	
7	ungeimpft		5,33		89

Setzt man die durch Impfung mit Erbsenbakterien gewonnene oberirdische Trockensubstanz bezw. Stickstoffmenge = 100, so beträgt die Ernte der Erbsen

	an Trockensubstanz	an Stickstoff	an Samen
ungeimpft	22,18	11,98	8,3
Impfung mit Bohnenbakterien	22,01	9,42	7,4
Impfung mit Kreuzungsbakterien	69,83	49,26	54,4

Das Ergebnis des Versuches mit Erbsen läßt sich hiernach folgendermaßen ausdrücken:

1) Den vollen Ertrag haben nur die Erbsenbakterien geliefert;

2) die Bohnenbakterien sind an den Erbsenpflanzen wiederum gänzlich unwirksam geblieben; die Pflanzen unterscheiden sich von den ungeimpften nur dadurch, daß eine — bei letzteren absolut unterbliebene — Bildung inaktiver Knöllchen eingetreten ist;

3) die „Kreuzungsbakterien“ sind durch ihre vorjährige Symbiose mit den Bohnenpflanzen den Erbsen entfremdet worden; ihre Virulenz an diesen ist geschwächt, was schon durch die weniger dunkelgrüne Farbe im Vergleich zu den mit reinen Erbsenbakterien geimpften Pflanzen zum Ausdruck kam.

Ueber die Knöllchenbildung an den Erbsenwurzeln ist Folgendes auszusagen:

Die ungeimpften Pflanzen sind völlig knöllchenfrei.

Die Bohnenbakterien haben an den Erbsenwurzeln nur wenig Knöllchen erzeugt. Im Topf 1 erwiesen sich zwei, im Topf 2 drei von den 7 Wurzeln überhaupt knöllchenfrei; die übrigen besitzen in einer mittleren Region wenige kleine, zum Teil knäuelförmig zusammengedrängte Knöllchen, welche fast ausschließlich den feinen Wurzelfäden dritter Ordnung ansitzen. An einer der Wurzeln in Topf No. 1 entspringt diejenige Wurzel zweiter Ordnung, an welcher die knöllchentragende der dritten Ordnung ansitzt, etwa 30 mm unterhalb der Stengelbasis, und trägt ihrerseits in einer Tiefe von 80 mm 3 Knöllchen, welche 5 bezw. 10 und 20 Gabelzweige besitzen.

Die Erbsenbakterien haben an der Erbse außerordentlich zahlreiche, große Knöllchen erzeugt. Diese sind in 2 deutlich gesonderte Regionen verteilt. Ungefähr die Hälfte, sichtlich durch die Impfung der oberen Bodenschicht entstanden, sitzt in dichten Knäueln an den Wurzeln zweiter und dritter Ordnung nahe der Stengelbasis. Die zweite Partie großer, gleichfalls knäuelbildender Knöllchen sitzt hauptsächlich an den Endigungen der Wurzeln zweiter Ordnung. Eine Auszählung der Knöllchen an je 2 Wurzeln der Töpfe 3 und 4 ergiebt:

	Topf 3			Topf 4		
	a	b	Mittel	a	b	Mittel
große Knöllchen	162	95	129,5	137	132	134,5
kleine Knöllchen	19	13	16,0	55	58	56,5

Von den 162 großen Knöllchen (a) sitzen 85 in der oberen, 77 in der unteren Wurzelregion.

Die Wurzeln der mit Kreuzungsbakterien geimpften Pflanzen (Topf 5 und 6) besitzen große, anscheinend völlig normale Knöllchen, hauptsächlich in einer Tiefe von 50—60 mm an den Wurzelfäden zweiter und dritter Ordnung. Eine knäuelförmige Anordnung ist nicht vorhanden. Außer diesen großen sind noch zahlreiche kleine, rundliche, dem Anscheine nach erst neuerdings gebildete Knöllchen vorhanden. Eine Auszählung von je 2 Pflanzen jedes Topfes ergiebt:

	Topf 5 a	Topf 5 b	Topf 5 Mittel	Topf 6 a	Topf 6 b	Topf 6 Mittel
große Knöllchen	130	176	153	118	103	110,5
kleine Knöllchen	253	228	240	120	183	151,5

Die Zahl der Knöllchen ist also hier eine größere, als bei der Impfung mit reinen Erbsenbakterien; doch sind die meisten klein, voraussichtlich noch nicht zur Wirkung gelangt.

2. Die Ergebnisse der Bohnenimpfung.

Die Bohnenpflanzen blieben weit länger grün, als die Erbsen. Ihre Ernte wurde daher später vorgenommen.

Im August und Anfang September sind sie am prächtigsten charakteristisch entwickelt. Die Impfung mit reinen Bohnenbakterien steht in ihrer Wirkung weit voran; ihr folgt die Impfung mit Kreuzungsbakterien. Die Erbsenbakterien haben zwar Knöllchen erzeugt, doch sind diese bis zuletzt wirkungslos geblieben. Es hat also eine Anpassung der „Kreuzungsbakterien" an die Bohnen stattgefunden.

Die von den Bohnen geerntete oberirdische Trockensubstanz und Stickstoffmenge beträgt:

Topf No.	Impfung mit:	Trockensubstanz g		Stickstoff mg	
1, 2	Bohnenbakterien	66,93; 55,93	61,43	1986; 1950	1968
3, 4	Erbsenbakterien	12,81; 12,95	12,88	158; 188	173
5, 6	Kreuzungsbakterien	51,45; 47,46	49,60	1499; 1445	1472
7	ungeimpft		13,89		171

Wird auch hier, wie oben bei den Erbsen, das Erträgnis der mit den gleichnamigen (Bohnen-)Bakterien geimpften Töpfe = 100 gesetzt, so ergiebt sich für die Impfung mit:

	Trockensubstanz	Stickstoff
1. Bohnenbakterien	100	100
2. Erbsenbakterien	20,97	8,79
3. Kreuzungsbakterien	80,74	74,80
4. ungeimpft	22,61	8,64

Die Auszählung der Wurzelknöllchen sämtlicher 8 Bohnenpflanzen je eines Topfes hat Folgendes ergeben:

a) Impfung mit reinen Bohnenbakterien. Die Zahl der Knöllchen beträgt:

656 — 493 — 445 — 304 — 736 — 295 — 681 — 637,
= Mittel **531** pro Pflanze.

Die Knöllchenbildung herrscht hier in einer 80—100 mm tiefen Bodenregion vor und beschränkt sich wesentlich auf die Fasern der dritten Wurzelordnung. Fast sämtliche Knöllchen sind zu Knäueln von 10—22 Einzelknöllchen vereinigt. Ueberall erscheinen in der Region der alten Knöllchen mit schwärzlicher Korkhülle kleine, noch völlig frische und gesunde; sie bilden etwa $^1/_4$ der Gesamtzahl.

b) Impfung mit reinen Erbsenbakterien. Die Knöllchenzahl beträgt:

263 — 248 — 185 — 342 — 290 — 460 — 614 — 381,
= Mittel **348** pro Pflanze.

Sehr kleine Knöllchen treten nur vereinzelt auf; der Durchmesser schwankt zwischen 2 und 4 mm. Ebenso fehlen vollständig die den normalen Bohnenknöllchen eigentümlichen Längsstreifungen. Sie sind kegelförmig, meist isoliert, seltener zu kleinen Knäueln verwachsen. Wie schon früher bei Bohnen mehrfach beobachtet wurde, entspringt auch hier bisweilen, namentlich aus den kleineren Knöllchen, direkt ein feines Würzelchen. In der Hauptsache sitzen die Knöllchen in einer Region von 40—50 mm unterhalb der Bodenoberfläche, welche sich bis 110 mm Tiefe erstreckt. Es wird der Eindruck hervorgerufen, als wären die Bakterien im vorliegenden Falle verhältnismäßig spät nach der Impfung in die Wurzeln eingedrungen.

c) Impfung mit Kreuzungsbakterien. Die Auszählung der 8 Wurzeln ergab:

505 — 319 — 184 — 400 — 510 — 771 — 457 — 435,
= Mittel **448** pro Pflanze.

Die Verteilung der Knöllchen ist hier annähernd die gleiche wie an den mit reinen Bohnenbakterien geimpften Wurzeln. Die Knöllchen zeigen die charakteristische Streifung der normalen Bohnenknöllchen, unterscheiden sich auch von den durch reine Erbsenbakterien an den Bohnenwurzeln erzeugten Knöllchen durch ihre 5 mm erreichende Größe und knäuelförmige Häufung zu größeren Konglomeraten. Bemerkenswert ist, daß nur die jüngsten und wenige der völlig ausgebildeten Knöllchen — im ganzen vielleicht ein Drittel der Gesamtzahl — noch vollkommen frisch und gesund erscheinen, während die älteren zwei Drittel eine mehr oder minder geschwärzte Korkhülle besitzen.

d) Die ungeimpften Pflanzen sind, wie bemerkt, völlig knöllchenfrei.

Von Interesse ist ferner das sehr verschiedene Gewichtsverhältnis der Knöllchen zur Gesamtmasse der Bohnenwurzeln. Die Trockensubstanz der Wurzeln und Knöllchen unter dem Einflusse der verschiedenen Impfungen stellt sich, wie folgt:

Impfung mit:	Knöllchen	entknollte Wurzeln	Verhältnis der Knöllchen zu den Wurzeln
	g	g	
Bohnenbakterien	2,442	3,625	67,2 : 100
Erbsenbakterien	0,792	2,450	32,2 : 100
Kreuzungsbakterien	1,318	2,401	54,9 : 100

Das Gewicht der Bohnenknöllchen erreicht hiernach bei Impfung mit Bohnenbakterien $^2/_3$ der übrigen Wurzelmasse, bei Impfung mit Erbsenbakterien etwa $^1/_3$ und bei Impfung mit „Kreuzungsbakterien" reichlich die Hälfte. Auch in dieser Beziehung erweisen sich mithin die Bakterien der Erbsenknöllchen durch ihre vorjährige Entwickelung in Bohnenwurzeln der Natur der Bohnenknöllchen angenähert.

Aus den vorstehend beschriebenen Versuchen ergeben sich folgende Schlußfolgerungen:

1) Die aus Erbsen- und Bohnenknöllchen entstammenden Bakterien vermögen bei gegenseitiger Impfung an den ungleichnamigen



1 Ungeimpft. 2 Geimpft mit Bohnen- 3 Erbsen- 4 Kreuzungsbakterien.

Verlag von **Gustav Fischer** in Jena.

Pflanzen Knöllchen zu erzeugen, doch bleiben letztere meist unfähig, Stickstoff zu assimilieren und das Wachstum zu fördern.

2) Die durch Erbsenbakterien an Bohnenwurzeln gebildeten Knöllchen liefern ein Impfmaterial, welches an Bohnenpflanzen nicht nur zur Knöllchenbildung führt, sondern auch — zwar nicht die volle Wirksamkeit der echten Bohnenbakterien, immerhin aber eine annähernde Wirksamkeit erreicht. Die Trockensubstanz der mit diesen „Kreuzungsbakterien" geimpften Bohnenpflanzen beträgt 80,74 und der Stickstoffgehalt 74,80 Proz. von der durch reine Bohnenbakterien erzeugten Menge.

Dagegen sind die Erbsenbakterien durch das symbiotische Zusammenleben mitder Bohnenwurzel der eigenen Wirtspflanze in annähernd gleichem Maße entfremdet worden, wie sie den Bohnen sich angenähert haben. Ihre Virulenz an der Erbse erscheint geschwächt. Die unter der Wirkung der „Kreuzungsbakterien" gebildete Erbsen-Trockensubstanz beträgt nur 69,83 und die Stickstoffmenge 49,26 Proz. von der mit reinen Erbsenbakterien geimpften Pflanzen.

Für die Anpassungsfähigkeit der Knöllchenbakterien an eine andere Leguminosengattung ist hierdurch ein positiver Beweis geliefert.

Es wird nun zu prüfen sein, wie sich die zum zweiten Male der Symbiose mit Bohnenpflanzen unterworfen gewesenen Erbsenbakterien zu Bohnenpflanzen einerseits, zu Erbsenpflanzen andererseits verhalten werden.

28. Mai 1900.

Figurenerklärung.

Phaseolus vulgaris. Topf 1: Ungeimpft. Topf 2: Geimpft mit Bohnenbakterien. Topf 3: Geimpft mit Erbsenbakterien. Topf 4: Geimpft mit Kreuzungsbakterien.

The Foul Brood of Bees. Bacillus alvei (Cheshire and W. Cheyne).

By **Francis C. Harrison**, Ontario, Canada.

With 4 figures.

(Continuation.)

Geographical distribution.

It has been thought that the disease varies in different countries, that foul brood as it occurs in England is different from foul brood as it occurs in America, but as no bacteriological work has been done on this subject by those making the surmises, it has not been thought necessary to cite such writers as make the assertion.

I have examined diseased larvae from Europe (France, Switzerland, Austria, Germany, Italy, and Engand), Cuba, 13 States in the Union ranging from New York to California and from Michigan to Florida, and Canada, and have succeeded in isolating B. alvei from

all of them. It is true that some of the cultures show certain differences, but they have not been sufficiently pronounced to even constitute a well marked variety of the species. The pathogenicity of the bacillus no doubt varies in different countries, of that we have abundant evidence; and the possible explanation is given by Bertrand, who thinks that where bees have been kept for many years, the disease has existed for a long time and remains in an endemic state; but there has been produced in these countries a race of bees which have acquired a relative immunity, which considerably diminishes the effects of the disease, and enables apiculturists to treat it more easily. In new countries into which the disease, has been introduced, it rages with great virulence, and remedies giving good results in the older countries are worthless in the new. As an example of this statement, we have the different methods of treatment used in Canada and in Europe.

Bertrand (32) reports the disease as being present in every country in Europe. Benton (33) says that he has never met with the disease during the 6 years he kept bees in the Orient. Della Rocca (7) described a terrible epidemic in the Levant in 1780. Bovill (34) says that he has never seen it in Cyprus. In Africa, Feuillebois (35) reports it in Algeria. In Australia it is present in all the colonies, and especially so in New South Wales (36) and South Australia (37). Brickwell (38) reports that New Zealand is full of the disease.

The organism.

Bacillus alvei, Cheshire and W. Cheyne, 1885, from the larvae of bees suffering from the disease known as foul brood, la loque (Fr.), faul brut (Ger.).

Morphological characteristics. In form the organism is a slender bacillus, with ends slightly pointed and rounded. "In the larval juices it is about $\frac{1}{7000}$ of an inch in length and $\frac{1}{20500}$ inch in breadth. On agar the bacilli vary considerably in size, being $\frac{1}{7260}$ in. some as small as $\frac{1}{10000}$ in., and others as large as $\frac{1}{5000}$ in. When they have attained the latter size, division of the rod seems to begin. They are always somewhat pointed at their ends. Their average breadth is $\frac{1}{30000}$ in. averaging from $\frac{1}{35000}$ to $\frac{1}{25000}$ in." (23).

Klamann (25) states that there is often a clear point appearing in the bacilli with pointed ends.

From agar cultures 24 hours old, at 37° C the bacilli average 4 μ in length and 1,0 μ in breadth. On gelatine cultures grown at 22° C they are somewhat shorter. The bacilli grow singly but occasionally form chains of various length.

Stains. With the ordinary aniline stains the bacilli colour rather badly. Eisenberg (39), Klamann (25). The best stains are methelene blue and methyl violet. The bacilli accept Gram's stain, but the spores are not coloured by it. I find the most satisfactory stain is methyl violet. No capsule has been demonstrated by Welch's method.

Flagella. The bacilli are actively motile and possess a single

flagellum at one pole. The motility of the bacillus is quite pronounced in fresh cultures obtained from bouillon, agar, and gelatine. The flagella stain by Pitfield's, Loeffler's, and Van Ermengem's method.

Spore formation. "Spores are formed by this bacillus and are large oval bodies averaging in length $\frac{1}{12000}$ in. and in breadth $\frac{1}{23700}$ of an inch on agar the spores are arranged in long rows side by side, and are greater in diameter than the cells from which they are derived. The earliest appearance of spore formation takes place in 41 hours at 36° C (Cheyne), but in some cases it is even greater. The spores are formed in the centre of the rod, and the formation occurs as follows. — The rod begins to swell and becomes spindle shaped. Occasionally the swelling is more marked at one end. The spindle shape increases in size, and the centre of the swelling gradually ceases to take the stain. The capsule of the spore is apparently formed within the rod and is not merely the outer part of the rod. In three or four hours the rod is seen to have almost or completely disappeared although parts of the faint outline of the ordinary bacillus may be noticed.

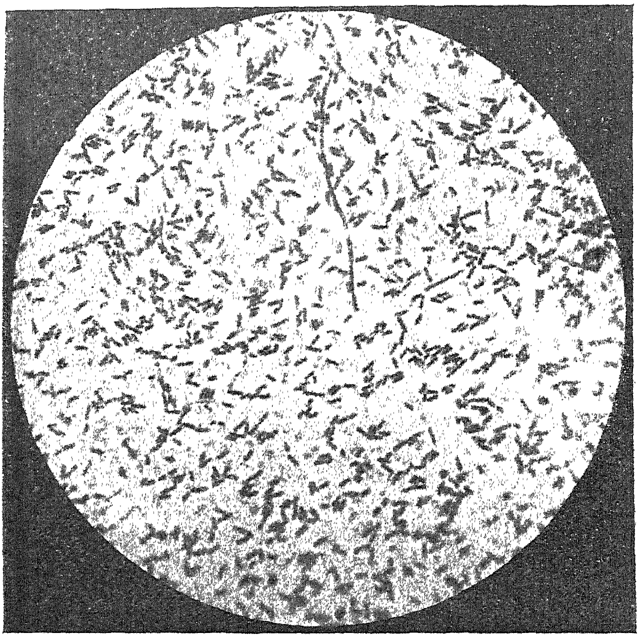
Germination of spores. Under favourable conditions the beginning of the germination of the spores takes place in about 3 hours. The spore loses its oval shape, becomes elongated and is soon seen to burst through the spore capsule at one part. It then presents the appearance of a short rod, with a pale envelope embracing one end. The rod gradually leaves the spore capsule, and then gors on multiplying as a full grown bacillus. According to Eisenberg (39) the spores are decolored by the tubercle bacilli stain, but preparations may be obtained by employing the Ziehl-Neelsen stain and alcohol for decolorization. The spores also stain by the method of Neisser.

Polymorphism. Variations in size and shape may be brought about by growth in acid media, or in media containing different sugars. These variations also occur in one culture subjected to exactly similiar conditions of growth.

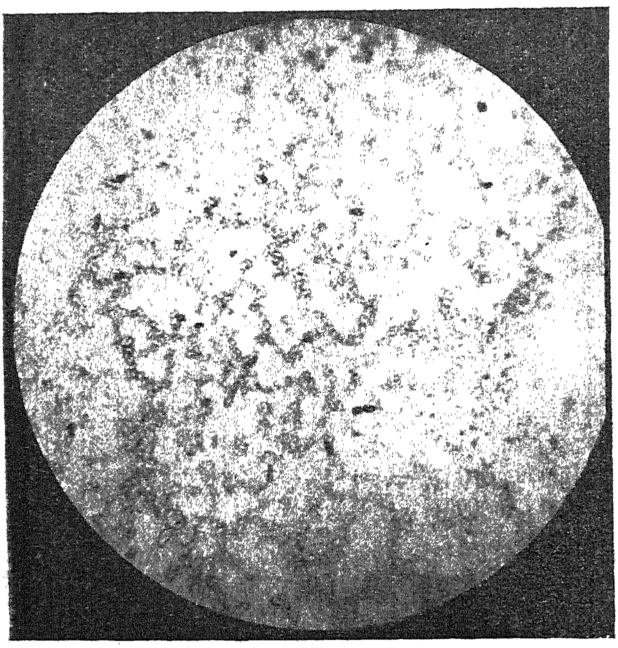
Involution forms. Abnormal forms are especially abundant when the bacillus is grown on blood serum peculiar Y like forms, and clubbed shapes are of common occurrence, and relatively few spores are found.

Biological characters.

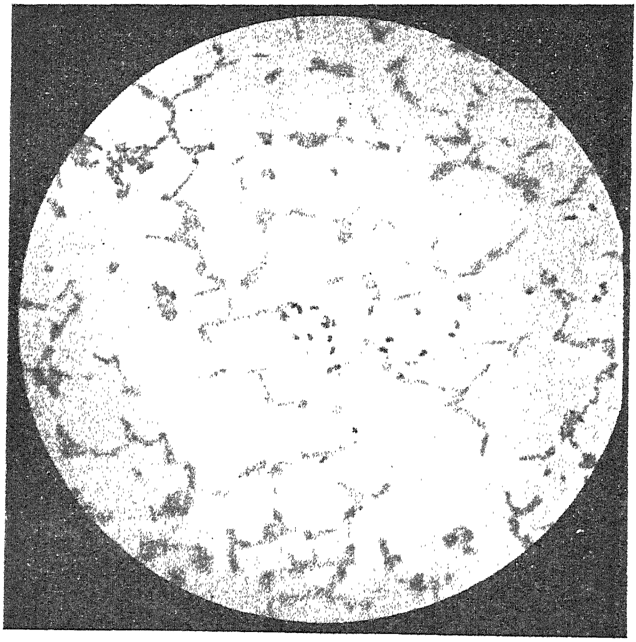
Bouillon. "In meat infusion at the temperature of the body they grow rapidly causing muddiness, and after a few days a slight but not tenacious scum" (23). In bouillon with a reaction of + 0,08 (57) at 37 ° C. There to slight turbidity in 14 hours, especially noticeable when the tube is shaken. In 24 hours the liquid is uniformly turbid, with a very fine sediment. In 48 hours the turbidity increases and a pellicle commences to form. Reaction of culture as this time + 0,07. After 96 hours the broth is clear, with a pellicle, white, rather massive and somewhat tenacious. There is also much sediment, reaction after 10 days growth-neutral.



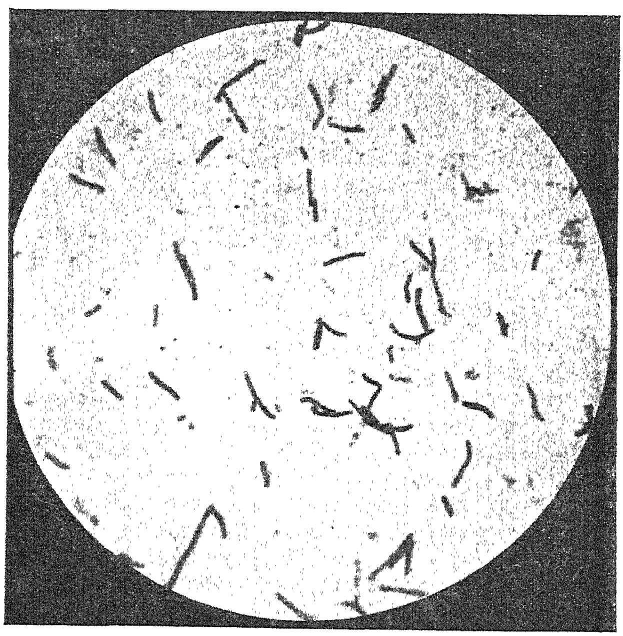
B. alvei and spores × 1000. From gelatine 7 days old at 20 ° C.
Stained with Methylviolet.



Spores of B. alvei × 1000. From agar 3 weeks old at 37 ° C.
Stained with Methylviolet.



B. alvei and spores × 1000. From agar 10 days at 37 ° C.
Stained by Moeller's method.



B. alvei × 1000. From blood serum 7 days old at 37 ° C.
Stained with Methylviolet.

For the photographs I am indebted to the kindness of Prof. Dr. Tavel, Bakteriologisches Institut Bern.

Glycerine bouillon. Media with original reaction of + 0,08. At 37° C the bouillon becomes slightly turbid in 12 hours, quite turbid in 24, with a fine, whitish pellicle on surface, which does, not extend to the sides of the tube. If the culture is skaken, the pellicle deposits in flaky masses. The reaction is + 1,2. In 36 hours the turbidity clears, leaving the media bright, with a smooth, thin, tenacious and white pellicle on the surface. In many cases the pellicle becomes very wrinkled and greasy looking. At the end of 8 days, the reaction is + 2,2, and the bouillon is several shades darker in colour, but quite clear. The reaction after 14 days growth is + 4,02. At 22° C the same changes occur but growth is slower. The bacilli are relatively less numerous than in bouillon and are slightly shorter and thicker.

Glucose bouillon. With a reaction of + 2,0. At 37° C the broth is more turbid than plain bouillon after 14 hours growth, and in 24 hours, the sediment is heavy, turbidity very marked, but no pellicle. In 48 hours the media is opaque and cloudy, and the pellicle is beginning to form. In 96 hours the broth is less cloudy, but the sediment is heavier, and a white, thick pellicle is formed, it is often wunkled, but not quite so much as that on the glycerine broth. Reaction of broth after 10 days growth + 4,06. The bacilli are occasionally clubbed and Y like forms may occur. They average 5 μ in length and may be slightly curved.

Lactose bouillon. With a reaction of + 1,06. At 37° C the growth resembles that in plain bouillon for the first 24 hours, but at the end of 48 hours it is more turbid. In 96 hours a tenacious pellicle forms less massive than that on glucose broth. Reaction after 10 days growth + 2,4. Bacilli average 3,5 in length.

Saccharose bouillon. With a reaction of + 1,0. At 37° C the turbidity and sediment are heavier than in any of the other bouillons. In 48 hours the broth is quite opaque and whitish looking. A heavy sediment is present and pellicle formation is just beginning. In 96 hours the cloudiness is about the same, but there is an increase of sediment and the pellicle is thin and membranous. Reaction of media after 10 days growth + 4,04. The bacilli average 5 μ in length.

Gelatine plates. At 22° C in 24--36 hours the colonies are small, round, oval or lozonge shaped, with peculiar projections or shoots from one end of the colony, giving it a pear shaped, or tadpole like appearance, according to the amount of development of the projection. In many cases, several of these outgrowths occur from different portions of the colony. By placing a cover glass on the surface of the gelatine and using objective 7, the bacilli may be seen moving around and around the colony and to and fro along the projections. At the end of 48 hours, the colonies are larger. Fine processes or projections are shooting out into the gelatine in all directions forming peculiar figures in circles or club like forms. "It is impossible" says Cheyne "to give a proper idea of the appearance of the growth; the forms assumed are the most beautifully shaped I have ever seen, but they are very numerous, always retaining the

tendency to form curves and circles". After a time the gelatine is liquefied and the beautiful appearance of the colony is destroyed by the liquefaction of the gelatine.

These peculiar shaped colonies are most typical when the germ is taken from the diseased larvae, after prolonged cultivation on various kinds of media there is a tendency of the colonies to become round, and the peculiar branching forms are not seen in such numbers. The composition of the gelatine also seems to make a considerable amount of difference in the appearance of the colonies. In gelatine containing 12 % gelatine the processes are not so long. The same effect may be brought about by using more peptone in the composition of the media.

Gelatine Tubes. In stich cultures at 20° C growth occurs all along the line of puncture. On the surface delicate branching or ramifying growth occurs in three days. These outgrowths soon run together and the gelatine is liquified first around the line of puncture, and in 5 days extends over the whole surface. The growth in the depth of the gelatine occurs as a whitish streak all along the needle track, and from this numerous shoots and growths branch out into the gelatine in all directions, giving a haziness to the appearance of the gelatine, and which then begins to liquefy. If the inoculation be a heavy one the shoots are coarse and may have clubbed shaped extremities, and from these swollen ends fresh shoots may start. Cheyne obtained the most characteristic growth in gelatine containing 3 % of peptone as well as 10 % gelatine. The whole tube is liquified in from 2—4 weeks growth. The liquid becomes yellowish in colour and gives off a peculiar odour. Klamann states that in gelatine acidified with lactic acid the growth is slow and long threads are formed.

Gelatine streak cultures. In gelatine streak cultures the appearance is very similar to what one sees in stich cultures. The bacilli first grow along the line of inoculation, then throw out shoots into the surrounding gelatine and thus produce the same appearance noted in stich culture. The bacilli move to and fro along the channels of liquified gelatine.

Agar plates. On agar plates at 37° C the colonies at the end of eight hours are small and burr like with spines protruding in all directions, giving the colony the appearance of a sea-urchin. In some case the projections are from one side or end. At the end of 12 hours colonies have well defined projections, visible to the eye. The colonies in the depths of the agar are more spiney, the processes being much shorter. On agar plates streaked with a light inoculation most beautiful forms occur, the growth of the bacilli spreading over the surface, and branching repeatedly, giving the appearance of seaweed. This appearance is very characteristic, and as the growth is very rapid, this method commends itself for making a rapid diagnosis of the presence of the bacillus, in larvae supposed to be diseased.

Potato cultures. On potatoes at 37° C "the bacilli grow slowly forming a dryish yellow layer on the surface. They grow

very slowly indeed at 20° C (Cheyne [23]). On potatoes the growth seems to differ considerably, according to the reaction and age of the potato. Sometimes a brownish, wrinkled growth is formed which gives off a peculiar odour, at other times the growth is yellowish and dry.

Milk. In milk at 37° C coagulation of the casein occurs in three days, milk becomes yellowish and gives off a characteristic odour. After several weeks growth the curd is digested and a whey like fluid remains.

Blood serum. On blood serum at 37° C the growth is rather slow and polymorphic forms are common. "Very long filaments are formed" (23). These long forms may be from 5 to 10 times as long as the average bacillus growing on gelatine, and consist of single cells. The filaments are often wavy or twisted and of unequal thickness. The extremities of many of the long bent rods are often clubbed. Y forms are numerous. Spores are formed very sparingly. The blood serum is liquefied.

Synthetic media (Uschinsky). In Uschinsky's media no growth occurs, but if the media in neutralised good growth ensues, the bacilli occur in threads and a pellicle is formed.

Dunham's solution. The bacilli are small when grown in this solution, no threads form. Slight indol reaction when nine days old.

Relation to free oxygen. Cheyne states that the germs grow most rapidly on the surface of agar, and arrange themselves side by side, and produce spores in this position after a few days growth. Eisenberg (39) says nothing under the head of aërobiosis. Howard (40) writes that "It grows best under anaërobic conditions; is a facultative aërobe; grows under the mica plate, and in the presence of oxygen the growth is slight and slow". Howard also states that under anaërobic conditions it emits a foul odour resembling that of foul brood. It will be thus seen that Cheyne and Howard do not agree on this point. The former author also mentions that the characteristic odour is given off under aërobic conditions, whilst Howard states that this smell is emitted under anaërobic conditions. Further, Cheyne states that the bacilli grow with great rapidity on the surface of agar, whereas Howard obtains his best growth under the mica plate, which does not however give complete anaërobiosis.

Howard's conclusions are thus at variance with Cheyne's, and my own results fully corroborate the latter author.

Howard states that the spores of B. alvei are destroyed when exposed to atmospheric air from 24—36 hours, and in making his experiments he took sterilized road dust and mixed it with the dry foul brood masses from several cells which were previously dissolved in distilled water. The mixture was worked dry, and spread on sheets of paper, and trial cultures were made immediately and at intervals of every 12 hours for three days, and according to his results no growth occurred after 36 hours. In giving these results, Howard does not state whether he exposed the spores to sunlight or

diffused light, and he also used dry foul brood masses from several cells, and the age of these masses is not stated. These are points of considerable importance, every one knows the disinfecting power of direct sunlight, and the vitality of the spores from foul brood masses is variable. as some of my experiments show.

In my experiments the spores obtained from a pure culture on the surface of agar, were spread on coverglasses, and placed in a glass chamber, so arranged that a current of air was constantly circulating over them. This chamber was exposed to the ordinary light of a room with six large windows, and a coverglass was taken out every 24 hours and tested to see if the spores would grow. This experiment was continued for one month, and at the end of that time, the spores still germinated rapidly. In another experiment spores spread on coverglasses were exposed to a very diffused light, simulating as for as possible the amount of light which would enter a hive. Coverglasses have been taken out from time to time and transferred to agar in order to ascertain if the spores were alive or not. The experiment was begun 2 years and 4 months ago and from the last coverglass taken and placed upon the surface of an agar plate a copious and typical growth of B. alvei was obtained. Thin strips of filter paper, plunged into a bouillon culture, and then allowed to dry, were threaded on a wire suspended in a wire basket, and so exposed that the air could freely circulate around them in the ordinary light of a room. Trial cultures were made at intervals, and at the expiration of 6 months, the spores from the paper germinated when the strips were placed on the surface of agar.

Again, a drop of bouillon containing spores was placed in a sterile tube and allowed to dry, at the expiration of 124 hours (36 of which were in sunlight at a temperature varying from 30—37 ° C) sterile bouillon was added. The tubes were then placed in the incubator, and in less than 24 hours a good growth of the germs had taken place. From these experiments it will be seen that the result are directly at variance with Howard's proposition. They go to show that the vitality of the spores of B. alvei is not destroyed by atmospheric air for a much longer time than 24—36 hours.

With regard to the aërobiosis of this bacillus, good growth has been obtained in an atmosphere of hydrogen by Novy's method. Buchner's method also gave good results. The growths in the various media are very similar to those grown under aërobic conditions, but with this difference, that the surface growths are as a rule whiter in the hydrogen atmosphere. In illuminating gas (water gas) no growth occurs, but the spores are not destroyed by the action of the gas, for when the gas was let out of the Novyfar, good growth ensued on all cultures. In acetelyene gas a restricted growth occurs. In fermentation tubes growth occurs both in the open and in the closed arm of the tubes. No gas is formed, the bouillon in the closed arm is uniformly turbid. Thus B. alvei is a faeultative anaërobe.

Production of alkali. In ordinary bouillon a slight amount of ammonia is formed. Control bouillon did not give the Nessler

test. In glycerine and the sugar bouillons there is no trace of ammonia. Cheyne's cultures were faintly alkaline both before and after inoculation in meat infusion. Klamann states that ammonia is produced.

Acids formed. A varying amount of acid is formed. All the sugar bouillons gave an acid reaction.

Formation of pigment. On potatoes a yellowish growth is produced. On all other media the surface growth is white.

Development of odours. Cheyne states that gelatine cultures give off an odour of state, but not ammoniacal urine, or what may be better described as a shrimpy smell, and this peculiar odour has been found by Cheshire to be distinctive of diseased larvae. Klamann and Howard both state that a peculiar odour resembling that of the diseased larvae may be noticed in artificial cultures.

The effects of dessication. I have already noticed under the head of "Relation to free oxygen" that the spores of B. alvei have considerable vitality in withstanding dessication. My experiments prove conclusively that the spores are extremely hard to kill by dessication and probably resemble those of anthrax which are known to resist this influence for a number of years. Another experiment which shews their longevity under dessicating conditions may be mentioned. An agar plate completely covered with a typical growth of B. alvei was allowed to dry out completely, and was left exposed to the ordinary light of the room for 7 months, at the end of that time a portion of the film was scraped off with a knife, placed on suitable media, and incubated, with the result, that a typical growth immediately ensued.

Spores on coverglasses were exposed to September sunlight (Latitude [43]) for varying periods of time, and growth occured after 4, 6 and 7 hours exposure. The age of the spores varied from 5 days to 18 months. Spores 3 months old were not killed after 7 hours exposure.

Thermal relations.

Maximum for growth. The maximum for growth is about 47° C. At 44° C good growth occurs, but at 50° C growth ceases. Experiments on maximum for growth were performed on germs isolated from a number of different places. Little or no difference was noticed in their behaviour when incubated at the temperatures mentioned.

Optimum for growth. The optimum for growth is about 37,5° C for all media except gelatine. This has been determined by Cheyne and Eisenberg (39). On gelatine the best results are, of course, obtained from higher temperatures, but as 10 % gelatine melts at about 24° C, 22° C cannot be exceeded.

Minimum for growth. Cheyne states bacilli do not grow below 16° C. I have occasionally obtained growth at 14° C on the surface of agar, but it was extremely slow. The spores will not germinate at this temperature. No difference is apparent in germs obtained from different countries.

Thermal death point. Considerable discrepancy exists in experiments to determine the thermal death point of this bacillus, in part accounted for by the different methods used by different investigators. This is a very important matter in connection with the heating of wax and honey from colonies suffering from foul brood, because it is necessary to destroy the spores to prevent reinfection of other bees. Mackenzie (28) found the thermal death point by suspending silk threads saturated in a beefbroth culture of B. alvei containing spores. The threads were allowed to dry, and introduced into melted wax, and allowed to remain therein for a definite time at a fixed temperature. At the end of that time the thread was introduced into melted agar and thoroughly shaken so as to separate the wax from the threads. The cultures thus made were rapidly cooled, and the tubes placed in the incubator at 37° C. The following are his results.

At 100° C for	$^1/_4$	of an hour		growth
" " "	$^1/_2$	" " "		"
" " "	1	hour		"
" " "	$1^1/_2$	hours		"
" " "	2	"		"
" " "	$3^1/_2$	"	no	"

At 90° C for	$^1/_2$	hour		growth
" " "	1	"		"
" " "	2	hours		"
" " "	3	"	no	"
" " "	4	"	no	"

On the other hand a temperature of 50° C did not destroy the spores in 24 hours. These experiments were repeated with the same results. These results were criticised by Corneil (28), who claimed that the heat to which the bacteria were exposed in melted wax was not moist but dry heat, consequently the wax must be heated to a high temperature and for a longtime in order to destroy the spores. According to the testimony of two prominent foundation makers the wax during the refining and purifying process reaches a temperature of quite or nearly 100° C for a short time. During the sheeting, however, it does not reach a temperature much above the melting point, say 79° C. Two other foundation makers, Dadant and Hunt (41) state, that in refining, the wax in heated for some time at 100° C, and is kept liquid for 24 hours. Mackenzie thinks that of these temperatures are reached during foundation making there is little danger from foul brood, as the specific gravity of bacteria in the melted wax is so great that throughout the process of manufacture the bacteria tend to fall to the bottom. Sternberg (42) states that the spores require for their destruction a temperature if 100° C for four minutes (determined in 1887) but there is no statement as to the age of the spores. In Howard's experiments (40) tubes of liquid gelatine containing spores of B. alvei were placed in an open vessel of boiling water and allowed to remain therein for a definite time; "in all probability the water did not reach boiling point". Trial cultures were made at stated intervals with the following results:

After	15	minutes	growth
"	30	"	"
"	45	"	"
"	50	"	no growth
"	60	"	" "

His trial cultures were on potato and gelatine, and no statement is given regarding the age of the spores, where they were from, or the temperature at which they were incubated, but it is evident that they were not given the most favourable conditions for growth.

I have performed the following experiments on the thermal death point of the spores.

Method. Test tubes containing bouillon were placed in boiling water. Three loopsful of culture were inoculated into each of the tubes, and tubes were withdrawn from the boiling water at stated intervals, cooled and incubated.

Results. 1. Spores from a seven months old culture in bouillon were killed at a temperature of 100° in 1 hour 20 minutes.

2. Spores from a $2^{1}/_{2}$ months old culture on agar were killed in two hours a half.

3. Spores from agar nine days old, slight growth after 2 hours 45 minutes, no growth after three hours.

4. Spores 14 days old and 21 days old; in each case after 2 hours boiling one of the duplicate tubes formed a growth, another after $2^{1}/_{2}$ hours, whilst the remainder had no growth. All were killed after 3 hours.

I have also used fine capillary glass tubes. A suspension of the spores in water is drawn up into a sterile tube, which in then sealed at both ends. The tubes are placed into boiling water and with drawn at stated intervals; the contents of the tubes are then inoculated into agar, which is incubated at 37° C. Great care was taken to have a suspension of the spores by filtering them through glass wool.

The results were — spores from a 7 days old culture on agar were killed in 2, $2^{3}/_{4}$ and 3 hours. Spores from agar 9 days old, killed after 3 hours exposure. The boiling temperature was 98° C.

Another experiment was made to determine the thermal death point in honey. The honey was of two kinds, clover and buck wheat, the former had a specific gravity of 1,042 at 60° C and contained 0,057 % of formic acid, the latter had a specific gravity of 1,040 at 60° C and contained 0,170 % of formic acid. The spores used were from agar three weeks old, and three methods were adopted.

1. Silk threads with dry spores theron. 2. Test tubes containing honey with a heavy inoculation of spores. 3. Capillary tubes containing a suspension of spores in distilled water. The spores used were not filtered through sterile glass wool, as it seemed desirable to imitate as far as possible the conditions met with in infected honey. The following are the results:

1. Silk threads with dried spores, from an agar culture 2 weeks old.

Time	Temperature ° C	Result
15 minutes	115	growth
30 „	113	„
45 „	115	„
60 „	113	„
1 hour 15 minutes	114	„
1 „ 30 „	115	„
1 „ 45 „	115	„
2 hours — „	114	„

Time	Temperature ° C	Result
2 hours 15 minutes	116	growth
2 „ 30 „	115	„
2 „ 45 „	115	no growth

2. Tubes containing honey and spores mixed together.

Time	Temperature ° C	Result
30 minutes	115	growth
45 „	114	„
60 „	114	„
1 hour 15 minutes	114	„
1 „ 30 „	114	„
1 „ 45 „	115	„
2 hours — „	115	„
2 „ 15 „	116	„
2 „ 30 „	115	no growth
2 „ 45 „	115	„ „

3. Capillary tubes with spores in distilled water.

Time	Temperature ° C	Result
30 minutes	114	growth
1 hour — minutes	114	„
1 „ 30 „	114	„
2 hours — „	114	„
2 „ 15 „	115	„
2 „ 30 „	115	„
2 „ 45 „	115	no growth

The temperatures were taken in a large vessel containing 10 pounds of boiling honey. The above results were repeated using buckwheat honey instead of clover and with like results.

Relation to light. A few experiments to ascertain the behaviour of spores toward light were tried. Coverglasses spread with spores and dried, were exposed to bright sunlight during the month of February. The exposure was in the open air and the glasses were on black tile. The temperature varied from —12° C to —22° C. After exposure the glasses were placed film side downwards on agar plates, and then incubated at 37° C.

Results:

Time	Result
3 hours sunlight	abundant growth in 16 hours
6 „ „	„ „ „ „ „
9 „ „	„ „ „ „ „

These experiments were repeated in September when the outside temperature varied from 24° C to 30° C with the following results: Growth after 4, 6 and 7 hours exposure.

Agar plates exposed after inoculation shewed great differences, for instance, spores 21 days old were killed after 5 hours exposure, whilst the same exposure made the day after with spores 2 months 21 days old, required 7 hours exposure. Spores 10 days old no growth after 5 hours exposure. Spores 5 days old no growth after 6 hours. From a large number of determinations, the average length of exposure necessary to kill spores was 5 hours.

(Continuation follows.)

Referate.

Dienert, Fr., Sur la fermentation du galactose et sur l'accoutumance des levures à ce sucre. (Annales de l'Institut Pasteur. T. XIV. 1900. p. 139—189.)

Die Angaben über die Gärfähigkeit der Galaktose sind einander sehr widersprechend, und es ist eine dankenswerte Aufgabe, durch eigene Untersuchungen die Frage zu klären. Dienert hat die mit Glukose verunreinigte Galaktose des Handels für seine Zwecke gereinigt, indem er dieselbe durch den Saccharomyces Ludwigii, der nur die Glukose angreift, vergären ließ. Derselbe Saccharomyces diente bei der Bestimmung von Galaktose neben Glukose, indem das Reduktionsvermögen gegenüber Fehling'scher Lösung vor und nach der Vergärung mit demselben bestimmt wurde.

Als Dienert eine Anzahl (89) von Heferassen des Laboratoriums auf ihr Verhalten gegenüber Handelsgalaktose in 4-proz. Lösung in Malzkeimabsud, versetzt mit 1 Proz. Pepton, prüfte, fand er 23 Proz. derselben (also wohl 20 Rassen) unfähig, die Galaktose zu vergären. Als er dann verschiedene Hefen (eine Unterhefe und Frohberg-Hefe) in Glukose- resp. Galaktoselösungen (30 resp. 20 Proz.) in Malzkeimabsud, die zum Teil mit Pepton resp. Ammonphosphat versetzt waren, einsäte, zeigte sich, daß die Alkoholproduktion sowohl aus Glykose wie aus Galaktose durch den Pepton- resp. Ammonphosphatzusatz erhöht wurde. Umgekehrt hemmte ein Zusatz organischer Säuren (Weinsäure) die Entwickelung der Hefe in Galaktoselösungen, und zwar weniger, wenn die Hefe vorher schon in Galaktoselösungen gezogen, also etwas acclimatisiert war, als wenn dies nicht der Fall war.

Ein ähnlicher Einfluß der Heranzüchtungsart der Hefe zeigt sich, insofern eine vorher in Galaktoselösung herangezogene Hefe Galaktose sofort vergärt, nicht aber eine in reiner Glukoselösung herangezogene. Gegenüber Glukose zeigen in Glukose- und in Galaktoselösung herangezogene, an Glukose resp. Galaktose acclimatisierte Hefen keinen Unterschied in der Gärungsenergie. Selbst bei den Laktosehefen, die doch an sich schon gegenüber Galaktose sehr gärkräftig sind, zeigte sich der Einfluß der Acclimatisation sehr deutlich, insofern sie in Galaktose- oder Laktoselösung herangezogen, in Galaktose viel schneller die Gärung beginnen, als wenn in rohrzuckerhaltiger Nährlösung herangezogen. In Lävulose, Maltose, Melibiose, also in Zuckern, die bei der Hydrolyse keine Galaktose geben, herangezogene Hefe verhält sich ebensowenig gärkräftig gegenüber Galaktose wie in Glukose resp. Rohrzucker herangezogene: Die Hefe muß sich also zunächst an die Vergärung der Galaktose anpassen. Acclimatisierte Hefe vergärt Galaktose 1,6mal schwächer als Glukose. Die Anpassung an die Vergärung von Galaktose geht nur zum Teil verloren, wenn eine angepaßte Hefe wieder Glukose vergärt. Um aber die maximale Anpassung zu behalten, ist die Gegenwart von Galaktose unerläßlich oder wenigstens das Fehlen anderer Zuckerarten, die Galaktose nicht enthalten. An

letzteren Zucker angepaßte Hefe ist augenscheinlich empfindlicher gegenüber Alkohol als nicht angepaßte.

Der Luftzutritt fördert die Anpassung der Hefen an Galaktose, Verminderung desselben wirkt in umgekehrter Richtung. Der Zusatz von Borsäure verhindert die Anpassung von Glukosehefen an Galaktose vollständig, ohne die Vergärung von Glukose oder die bestehende Galaktose-Anpassung von Glukosehefen aufzuheben. Toluol (in gesättigter wässeriger Lösung) hindert sowohl die Anpassung an Galaktose wie die Vergärung dieser und der Glukose, schädigt übrigens auch das Protoplasma der Hefe sehr leicht.

Von anderen Substanzen hindert Aepfelsäure die Gewöhnung der Hefe an Galaktose nicht, hemmt aber mit zunehmender Dosis die Vergärung derselben weit mehr als die der Glukose. Aehnlich verhält sich Alkohol. Andere Körper endlich, die eigentlichen Antiseptica, hindern die Anpassung nicht, wohl aber die Vergärung, und zwar die jeder Zuckerart. So Sublimat, Karbolsäure, Alkohol bei Gegenwart größerer Hefemengen. Der Alkohol soll nach dem Verf. also verschieden wirken, je nachdem größere oder geringere Hefemengen vorhanden sind; im letzteren Fall soll er nur auf die Zymase der Hefe derart einwirken, daß von derselben Galaktose schwieriger angegriffen wird, ähnlich wie die Gegenwart von Maltose schwächend auf die Verzuckerung der Stärke durch Diastase wirkt. Bei viel Hefe dagegen wirkt der Alkohol als Plasmagift. Eine Erklärung für diese Deutung der Versuche wird nicht gegeben; die Deutung erscheint dem Ref. keineswegs einwandsfrei.

Weiter beschäftigt sich Verf. mit der Frage, ob nicht alle Glukosehefen der Anpassung an die Vergärung von Galaktose fähig sind. Verf. greift zurück auf den bereits erwähnten Weg, durch Aufenthalt in toluolhaltigem Wasser aktive d. h. Galaktose vergärende Hefen ihrer Aktivität zu berauben. Umgekehrt kann man, wie schon Dubourg fand, durch Kultur in stickstoffreichen, eine Mischung von Glukose und Galaktose enthaltenden Nährlösungen inaktiven Hefen ihre Aktivität zurückgeben. Allerdings gelingt das nach Verf. bei dem Verfahren Dubourg's nur zum Teil, da nicht mehr als 2—3 Proz. Galaktose von so aufgefrischter Hefe vergoren wurden. Indessen zieht er den Schluß, daß alle Hefen, welche Glukose vergären, auch Galaktose zu vergären vermögen, daß sie aber bezüglich der Anpassung an diese Zuckerart sehr verschiedene Anforderungen stellen. Die sogenannten inaktiven Hefen sind in dieser Beziehung die anspruchsvollsten. Aber inaktive, gegenüber Galaktose passive Hefe im strengsten Sinne des Wortes giebt es nicht.

Bei der Untersuchung des Verhaltens der Hefe in einem Gemisch von Glukose und Galaktose findet Verf., daß die Gegenwart der ersteren vielfach die Anpassung an Galaktose fördert, niemals verhindert. Lävulose verhält sich umgekehrt, sie hemmt oder hindert die Gewöhnung der Hefen an Galaktose. Im übrigen bestätigen die Versuche das Prinzip Dumas' nach dem zwischen der Dauer der Gärung und der Menge des vergorenen Zuckers eine von der Konzentration des letzteren unabhängige Beziehung besteht; auch für Mischungen von Glukose und Galaktose besteht diese übrigens nur für an

sich gute Nährlösungen (z. B. nicht für rein mineralische) geltende Beziehung, vorausgesetzt, daß die Hefe an Galaktose bereits gewöhnt ist, und unter Berücksichtigung der bereits erwähnten Erfahrung, daß die Galaktose auch von aktiven Hefen 1,6mal langsamer vergoren wird als die Glukose.

Bei der Gewöhnung an Galaktose gehen aber auch Veränderungen in anderen physiologischen Eigenschaften der Zellen vor sich. So sind acclimatisierte Hefen resistenter gegen Toluol als nicht acclimatisierte; erstere behalten in toluolhaltigem Wasser ihr Gärvermögen (die Zymase, wie sich Verf. ausdrückt) länger. Während der Invertingehalt aktiver und inaktiver Hefen gleicher Rasse keinen Unterschied zeigte, war dagegen der Gehalt an Laktase, dem Enzym des Milchzuckers, in Milchzuckerhefen, die in Milchzucker- resp. Galaktoselösungen herangezogen waren, 2—4mal größer als in solchen, die in Glukoselösungen kultiviert waren. Ganz ebenso zeichnen sich in Galaktose herangezogene Glukosehefen durch einen höheren Gehalt an Melibiase, dem Enzym der Melibiose, welche dadurch in d-Glukose und Galaktose gespalten wird, aus. Es würde sich also zur Vergärung der Melassen, die an Raffinose (Melibiose + Lävulose) reich sind, die Anwendung von an Galaktose gewöhnter Hefe empfehlen.

Um die Gewöhnung der Hefen an Galaktose zu erklären, hält Verf. zwei Annahmen für möglich: Entweder besteht die Anpassung darin, daß die Bildung einer besonderen, für Galaktose spezialisierten „Zymase“ begünstigt wird, oder aber in einer dabei herbeigeführten Modifikation der gewöhnlichen „Zymase“ der d-Glukose, Lävulose und d-Mannose. Die erstere Annahme würde indes weder die Konstanz des Verhältnisses, in dem Glukose und Galaktose vergoren werden (1,6 : 1), erklären noch den Umstand, daß in Gemischen mit Beginn der Gärung der Galaktose die Vergärung der Glukose abnimmt. Beide Vorgänge würden ja unabhängig voneinander sein, wenn es sich um verschiedene Gärungsenzyme handelte. Verf. entscheidet sich aus diesen und anderen Gründen für die Annahme einer Modifikation der „Zymase“ durch die Gewöhnung, infolge deren sie auch Galaktose angreift. Er vergleicht diese Anpassung der Immunisation gegen Toxine und erhofft vom weiteren Studium derselben Vorteile für die Theorie der Immunität.

Behrens (Karlsruhe).

Malfitano, G., La protéolyse chez l'Aspergillus niger. [Premier mémoire.] (Annales de l'Institut Pasteur. T. XIV. 1900. p. 60—81.)

Zum Studium der eiweißverdauenden Enzyme bei Aspergillus niger bedient sich Malfitano nachstehender Methode: Er setzt zu 5 ccm einer 20-proz. Wassergelatine, die pro Liter 2 g Thymol enthält, 10 ccm der Enzymflüssigkeit (Kulturflüssigkeit, Extrakt aus dem Mycel) und hält die Proberöhrchen bei 35°. Von Zeit zu Zeit wird eines derselben auf 15° abgekühlt, und so der Zeitpunkt bestimmt, wo die Gelatine bei dieser Temperatur nicht mehr erstarrt.

Je längere Zeit von Beginn des Versuches bis zu diesem Resultat nötig ist, um so schwächer ist das Verdauungsvermögen der Flüssigkeit, die natürlich in allen Fällen dieselbe Reaktion haben muß, da die Art und der Grad der letzteren auf den Verflüssigungsvorgang nicht ohne Einfluß ist.

Verf. studiert zunächst das verdauende Enzym in der Nährlösung, als welche zunächst die Raulin'sche Flüssigkeit diente, und findet, daß der Gehalt der letzteren an dem Enzym mit dem Alter der Kultur zunimmt und ein Maximum erreicht, wenn das Mycel die Sporenbildung vollendet hat und dann allmählich abzusterben beginnt. Später nimmt der Gehalt wieder langsam ab. Mit dem Beginn des Absterbens von Pilzteilen in der Kultur tritt auch erst ein durch Alkohol fällbarer enzymhaltiger Körper in der Nährlösung auf. Das Auftreten von verdauendem Enzym in der Lösung ist also an das Absterben von Pilzzellen gebunden. Versuche über den Einfluß der Lüftung ergaben, daß der Enzymgehalt streng an die Pilzentwickelung, an die Masse und an den Reifegrad des Mycels gebunden ist. Dasselbe bestätigten die Beobachtungen über den Einfluß der Temperatur: Bei 25° ist die Entwickelung eine sehr schnelle, das reife Mycel erhält sich aber sehr lange frisch und lebendig, infolge davon vermehrt sich das Enzym nur sehr langsam in der Nährlösung. Dagegen ist bei 35° die Entwickelung des Pilzes zwar etwas verlangsamt und verringert, aber er erschöpft die Nährlösung eher, stirbt bald ab, und infolge davon tritt der maximale Enzymgehalt der Lösung eher ein. Die Ernährung (Ersatz der Ammoniaksalze durch Eiereiweiß, Caseïn, Fibrin, Gelatine, Zusatz solcher zur Raulin'schen Flüssigkeit, Ausschluß des Zuckers bei solchen Zusätzen etc.) ist auf die Bildung des Enzyms qualitativ ohne Einfluß, quantitativ nur insofern von Einfluß, je nachdem sie eine stärkere oder schwächere Entwickelung des Pilzes gestattet. Die Menge des in der Nährflüssigkeit vorkommenden Enzyms wird also ausschließlich bestimmt durch die quantitative Entwickelung des Pilzes und durch den Reifegrad desselben; der Austritt des Enzyms in das Nährmedium scheint nicht eine Lebensfunktion des Pilzes, sondern eine Folge des Todes desselben zu sein.

Weiter studiert Malfitano das Vorkommen des verdauenden Enzyms im Pilzmycel selbst, indem er dasselbe mit Sand verreibt und mit Chloroformwasser auszieht. Auch hier findet er eine Zunahme des Enzymgehaltes mit dem Alter der Zellen bis zum Beginn des Absterbens, wenn die Nährlösung erschöpft ist, wohl ein Spezialfall regulatorischer Enzymbildung (Ref.).

Das dritte Kapitel behandelt die Eiweißverdauung in den Zellen. Zunächst wird analytisch der Stickstoffaustausch zwischen Pilz und Nährmedium verfolgt, und es zeigt sich, daß durch den Stoffwechsel des Pilzes zunächst der Stickstoffgehalt der Nährlösung (50 ccm) erschöpft wird, dann aber durch Austritt von Stickstoffverbindungen aus dem Pilzmycel wieder zunimmt. Ein ähnlicher Austritt von Stickstoffverbindungen aus dem Mycel zeigte sich auch, wenn das geerntete Mycel sofort in thymolhaltiges Wasser übertragen und

48 Stunden bei 35° darin gehalten wurde, nicht aber resp. in weit geringerem Maße, wenn das Mycel zu Beginn der Maceration auf 100° erhitzt war, so daß die Enzyme vernichtet waren. Schon danach kann kein Zweifel sein, daß die verdauenden Enzyme die Hauptrolle bei der Lösung der Eiweißstoffe des Mycels und bei ihrem Rücktritt in die Nährlösung spielen. Das wird bestätigt dadurch, daß Maceration mit enzymreichem Filtrat einer Aspergillus-Kultur auch aus gekochtem Mycel die stickstoffhaltigen Körper großenteils auszieht, nicht aber, wenn in ihm ebenfalls die Enzyme durch Kochen zerstört sind. Auch im Preßsaft des Pilzmycels geht eine Verdauung der Eiweißstoffe vor sich, ähnlich wie nach Buchner im Hefepreßsaft. Weitere Untersuchungen zeigten, daß das eiweißlösende Enzym des Aspergillus am energischsten in neutraler Lösung wirkt. Auf die intracellulare Lösung der Eiweißstoffe wird aber die Reaktion des Nährmediums natürlich nur dann von direktem Einfluß sein, wenn es sich um tote Zellen handelt. Immerhin ist Verf. trotzdem geneigt, eine geringe Verzögerung des Eintritts der Sporenbildung bei Aspergillus-Kulturen auf saurer Nährlösung auf die sauere Reaktion der letzteren und auf die dadurch herbeigeführte Verzögerung der intracellularen Verdauung zurückzuführen.

Leider hat Verf. den Gang seiner analytischen Bestimmungen nicht genügend präzisiert, um ein Urteil darüber zu gestatten, wie man Unterschiede im gefundenen Stickstoffgehalt von 50 ccm Nährlösung + Mycel von bis 15 mg sich erklären soll.

Behrens (Karlsruhe).

Bachmann, H., Mortierella van Tieghemi nov. spec. Beitrag zur Physiologie der Pilze. (Pringsheim's Jahrb. Bd. XXXIV. 1899. p. 279. Mit Taf. IX u. X.)

Verf. fand die neue Art auf Pferdemist. Es wurde die Entwickelung festgestellt und die Physiologie des Pilzes genauer studiert.

Der erste Teil der Arbeit schildert die Entwickelung. Das Mycel ist weiß, einzellig und sehr reichlich verzweigt. Erst im Alter treten Kammerungswände auf. Die Fäden dringen nur wenig in das Substrat ein. Außer diesem Nährmycel wird noch ein Luftmycel entwickelt, das aus geraden, sehr selten verzweigten, ziemlich starren Hyphen besteht und stolonenartig das Substrat überzieht. Diese Lufthyphen anastomosieren sehr leicht.

Der Pilz bildet dreierlei Fortpflanzungsorgane, Sporangien, Gemmen und Stielgemmen. Die Sporangienträger entstehen seitlich an kurzen, gabelteiligen Seitenzweigen der Lufthyphen. Bei reichlicher Verzweigung entsteht ein geweihähnlich verästeltes Gebilde, das viele Sporangienträger erzeugt. Erst nach definitiver Streckung des Trägers erscheint an der Spitze als kugelige Anschwellung das Sporangium, das sich durch eine flache Querwand abscheidet. Während die Membranen des Mycels nur sehr wenig Chitin enthalten, findet sich in den starren und festen Sporangienträgern eine leicht nachweisbare größere Menge.

Die Vorgänge, die zur Sporenbildung führen, sind genauer studiert worden. Im Plasma des Sporangiums tritt nach erreichter Größe an der der Sporangienwand zugekehrten Seite eine Differenzierung ein, indem von einem Punkte aus in verschiedener gerader Richtung sehr schwache Streifen von eigentümlich organisiertem Plasma herausgebildet werden. Die Streifen treffen sich und erzeugen eine oberflächliche polyedrische Felderung, die allmählich in die Tiefe greift und das gesamte Plasma in Polyeder teilt. Später runden sich die Polyeder ab und werden zu Sporen.

Die Sporen sind im allgemeinen kugelig oder ellipsoidisch und von sehr verschiedener Größe.

Die Gemmen entstehen interkalar an den im Substrat lebenden Hyphen. Es sind hier keine unterdrückten Fruchtträger, sondern wirkliche Sporen.

Die Stielgemmen entstehen als kugelige Anschwellungen an kurzen Seitenästen. Sie besitzen eine dicke, mit Höckern versehene Membran.

Im zweiten Teile der Arbeit wird die Physiologie behandelt. Es kam darauf an, den Einfluß chemischer oder physikalischer Agentien auf die Ausbildung der Fortpflanzungsorgane festzustellen.

Um den Einfluß der chemischen Zusammensetzung des Substrates zu untersuchen, wurden zur Kultur die verschiedensten Stoffe herangezogen, z. B. Mistdekokt, Rohrzucker, Pepton, Pflaumensaft, Bierwürze, Brot, Gelbe Rüben, Kohlrabi, Kartoffeln u. s. w. Es ergiebt sich aus den Versuchen, daß der Pilz stickstoffreiche Nahrung notwendig hat. Die Quantität der Nährstoffe äußert nur insofern einen Einfluß, als durch größere Mengen auch die Entwickelung üppiger wird.

Flüssige Nährstoffe in hoher Schicht sind ungeeignet zur Kultur. Auf solchen Nährböden werden die Sporangien- und Luftmycelbildung unterdrückt.

Wurden konzentriertere Nährstoffe angewendet, so wurde die Sporangienbildung unterdrückt, die Stielgemmenbildung gefördert und ihre Membran meist ohne Warzen ausgebildet.

In Bezug auf den Einfluß der Temperatur ergab sich, daß das Optimum der Sporangienbildung bei 15°, das Maximum bei 20° liegt. Das Maximum der Stielgemmenbildung und der Mycelentwickelung fallen bei 24—25° zusammen.

Große Luftfeuchtigkeit veranlaßt üppiges Wachstum, die Sporangienbildung wird aber nicht unterdrückt. Trockene Luft läßt weder das Mycel noch die Sporangien gut gedeihen. Das Mycel ist positiv hydrotrop.

Sauerstoffmangel verhindert die Bildung des Luftmycels und der Sporangienträger. Im Dunkeln zeigte sich üppigere Entwickelung als im Licht.

Wenn in der Kultur reichlich Bakterien vorhanden waren, so wurde die Bildung der Sporangien unterdrückt.

Im Schlußkapitel faßt dann Verf. noch einmal die wichtigsten Resultate in kritischer Beleuchtung zusammen. Lindau (Berlin).

Ruhland, W., Ueber die Ernährung und Entwickelung eines mycophthoren Pilzes (Hypocrea fungicola Karst.). (Verh. d. Bot. V. d. Prov. Brandenb. Bd. XLII. 1900. Heft 1. p. 53—65. Mit 1 Taf.)

Als „mycophthor" (pilzverderbend) bezeichnet Verf. alle pilzbewohnenden Pilze, mögen dieselben Parasiten oder Saprophyten sein. Vertreter derselben befinden sich unter den Phycomyceten (Mucor, Piptocephalis, Chatocladium etc.), den Ascomyceten, den Fungis imperfecteis, bis zu den höchstentwickelten Basidiomyceten, wie Boletus parasiticus Bull. auf Scleroderma (Polyporus agaricinicola Ludw. auf Amanita), Nyctalis auf Russula. Die meisten „mycophthoren" Pilze gehören aber den Hypocreaceen an (Arten von Nectria, Letendraea, Melanospora, Barya, Eleutheromyces, Cordyceps, Hypocrea). Die vom Verf. näher untersuchte Hypocrea fungicola Karst. findet sich auf verschiedenen Polyporus-Arten, wie P. lucidus Leyss., P. nigricans Fr., P. pinicola Swartz, am häufigsten jedoch auf P. betulinus Bull. und P. igniarius L., und zwar in Tasmanien, Finnland, Lappland, England, Schweiz; in Deutschland ist sie aus der Mark Brandenburg, aus Schlesien, Sachsen und Tirol bekannt geworden. Während die nahe verwandte Hypocrea citrina auf Walderde, Holzstückchen etc. wächst, scheint nach den vergleichenden Kulturversuchen des Verf.'s die vorliegende Art, die früher als var. zu H. fungicola gestellt wurde, der Entwickelung auf Pilzen angepaßt zu sein, und zwar vollzieht sich dieselbe sowohl auf toten wie auf lebenden Polyporus-Arten. Der Pilz ist hiernach ein fakultativer Parasit, dessen Entwickelung als Parasit sich aber kräftiger vollzieht, wenn sich die Keimschläuche zuvor durch saprophytische Ernährung gekräftigt haben. Hypocrea fungicola entzieht zunächst, ähnlich wie Hypocrea Solmsii Ed. Fischer, dem Wirt die plasmatischen Substanzen (was durch Färbung nachgewiesen wird), die durch Diffusion beiderlei Membranen zu passieren haben; sie begnügt sich aber nicht mit dem Aussaugen des Inhaltes der Hyphen, sondern schreitet schließlich zu einer raschen und sehr energischen Auflösung der ihres Inhaltes beraubten Wirtshyphen. Die polsterförmigen Fruchtkörper sitzen daher nicht dem Wirt auf, sondern scheinen sich in denselben gewissermaßen hineingefressen zu haben. Verf. sagt:

„Wir kennen demnach nunmehr 5 Typen der Nahrungsaufnahme bei mycophthoren Pilzen, nämlich 1) Nahrungsaufnahme mittels kurzer Haustorien; 2) Hineinwachsen der Hyphen des Pilzes in die seines Wirtes (Chaetocladium etc.); 3) die Hyphen der beiderlei Pilze treten in direkte Kommunikation, indem die trennenden Wände gelöst werden; 4) die Hyphen treten in keinerlei direkte Verbindung; es erfolgt nur Aufnahme von Plasma (Hypocrea Solmsii); 5) wie 4), nur findet auch Resorption der Wirtsmembranen statt."

Die Deformationen, von der Hypocrea verursacht, sind nur unerhebliche, die Fruktifikation der Polypori wird durch ihn nicht verhindert. Die schädigende Wirkung besteht nur in einer lokalen

Resorption kleinerer oder größerer Partieen des Hymeniums. Das fertige Stroma füllt die Löcher des Röhrenwerkes völlig aus und wölbt sich über die Mündungen in Form von Unebenheiten hervor, die auf den ersten Blick als teratologische Bildungen des Polyporus selbst erscheinen.

Die Entwickelung des Pilzes hat Verf. an Schnitten der auf dem natürlichen Substrat wachsenden Fruktifikation wie an Reinkulturen in den üblichen Nährmedien studiert. Schon makroskopisch konnte derselbe eine Konidienform beobachten, wie sie schon Tulasne für andere Hypocrea-Arten fand und die als Trichoderma viride Pers., später als Verticillum globuligerum Sacc. beschrieben wurde. Er erhielt sie auch in den Kulturen, während es ihm hier ebensowenig wie Brefeld bei seinen Hypocreaceen gelang, in den Kulturen die Perithecien zu erzielen.

An den Perithecien nahm Verf. entgegen den Angaben der neuesten Systematiker mit Ed. Fischer äußerst feine, einfache, die Asken überragende Paraphysen wahr. Die Periphysen strahlen nach oben konvergierend, in den Innenraum des Tubulus aus, sie haben, wie es schon Zopf aussprach, die wichtige Funktion, durch Verengerung des Tubulus immer nur wenigen Schläuchen und immer den längsten und reifsten den Eintritt in denselben zum Zwecke der Entleerung zu gestatten. Es ließ sich leicht konstatieren, daß die Sporen successive reifen und so entleert werden.

Die Periphysen dürften daneben die jungen sich entwickelnden Schläuche vor Austrocknung schützen und Fremdkörpern das Eindringen verwehren. Tulasne und Brefeld geben für Hypocrea 8 Sporen für den Ascus an, die sich erst nachträglich bei der Reife in ihre Bestandteile trennen. Verf. fand dagegen in Uebereinstimmung mit Carrey, daß am Ascus durch freie Zellbildung 16 besondere Sporen angelegt und gebildet werden.

Die Paraplectenchymzellen, namentlich in den mehr äußeren Stromapartieen, zeichnen sich durch einen außerordentlich hohen Gehalt an Glykogen aus, wie es sich durch die Errera'sche Jodreaktion leicht an der weinroten Färbung nachweisen läßt. Zuletzt sind die Zellen von den amorphen Massen dieses für andere Lebewesen als Reservestoff so wertvollen Polysaccharids förmlich voll gepfropft. Ludwig (Greiz).

Entwickelungshemmung und Vernichtung der Bakterien etc.

Koch, Herm., Versuche mit der Saatkartoffelbeize. (Deutsche landwirtschaftl. Presse. 1900. 28. März.)

Das Frank'sche Verfahren, die Saatkartoffeln im Frühjahr vor der Bestellung mit Kupfervitriolkalkbrühe 24 Stunden lang zu beizen als Mittel zur Erzielung höherer Erträge und Gesunderhaltung der Kartoffelpflanze, hat sich auch bei Versuchen, die 1899 in Calbe a. S.

angestellt wurden, bewährt, sowohl bei frühen wie bei späten Sorten. Die gebeizten Kartoffeln keimten zwar 3—4 Tage später, aber gleichmäßiger und kräftiger als die ungebeizten; auch trat das kräftige gesunde Aussehen aller gebeizten Parzellen deutlich hervor. Der Mehrertrag nach Beizung auf je 1 Morgen war bei den einzelnen Sorten verschieden; bei Runde frühblaue 14,00, bei Ovale frühblaue 10,80, bei Paulsen's Juli 11,60, bei Malta 5,60 Ctr., entsprechend einem Mehrertrag von 35, 24, 29 und 14 M. pro Morgen.

Frank (Berlin).

Neue Litteratur,

zusammengestellt von

San.-Rat Dr. Arthur Würzburg,

Bibliothekar im Kaiserl. Gesundheitsamte in Berlin.

Untersuchungsmethoden, Instrumente etc.

Michaelis, L., Die vitale Färbung, eine Darstellungsmethode der Zellgranula. (Arch. f. mikrosk. Anat. Bd. LV. 1900. Heft 4. p. 558—575.)

Systematik, Morphologie und Biologie.

Arthur, J. C., Cultures of uredineae in 1899. (Botan. Gaz. Vol. XXIX. 1900. No. 4. p. 268—276.)

Bataillon, E., La résistance des oeufs d'ascaris et la pression osmotique. (Compt. rend. de la soc. de biol. 1900. No. 17. p. 435—437.)

Bertrand, G., Sur l'oxydation de l'érythrite par la bactérie du sorbose; production d'un nouveau sucre: l'érythrulose. (Compt. rend. de l'acad. d. scienc. T. CXXX. 1900. No. 20. p. 1330—1333.)

Bezzi, M., Di alcuni cecidomiidi e ditterocecidii nuovi per l'Italia ed interessanti. (Istit. r. lombardo di sc. e lett. Rendic. S. II. Vol. XXXII. Fasc. 19/20. Vol. XXXIII. Fasc. 1. p. 1351—1473, 1—107.) 8°. Milano (U. Hoepli) 1900.

Chanoz et Doyon, M., Action des basses températures snr la coagulabilité du sang et du lait et sur le pouvoir coagulant de la présure. (Compt. rend. de la soc. de biol. 1900. No. 17. p. 453—454.)

Cobelli, R., Contribuzioni alla biologia del Lophyrus pini L. (Verhandl. d. k. k. zoolog.-botan. Gesellsch. in Wien. Bd. L. 1900. Heft 2/3. p. 140—142.)

Cocconi, G., Ricerche intorno ad una nuova mucorinea del genere Absidia van Tgh. (Estr. d. Mem. d. r. Accad. d. scienze d. Istit. di Bologna. S. V. T. VIII. 8°. 8 p. Bologna 1899.)

Cockerell, T. D. A., Note on the Coccid genus Oudablis, Signoret. (Entomologist. Vol. XXXIII. 1900. March. p. 85—87.)

Conte, A., De l'influence du milieu nutritif sur le développement des nématodes libres. (Compt. rend. de la soc. de biol. 1900. No. 15. p. 374—375.)

— —, Sur les conditions de ponte des nématodes. (Ibid. p. 375—376.)

Dietel, P., Einiges über die geographische Verbreitung der Rostpilze. (Naturwissensch. Wchschr. 1900. No. 19. p. 217—220.)

Guégen, F., Variations morphologiques d'un Monilia sous l'influence de la culture. (Bullet. de la soc. mycol. de France. T. XV. 1899. Fasc. 4. p. 271—279.)

Giard, A., Sur un protozoaire nouveau de la famille des Gromidae (Amoebogromia cinnabarina Gd.). (Compt. rend. de la soc. de biol. 1900. No. 15. p. 377—378.)

Küster, E., Beiträge zur Kenntnis der Gallenanatomie. (Flora. 1900. Heft 2. p. 117—193.)

Morley, C., Parasitic hymenoptera etc. near Ipswich in October. (Entomol. monthly magaz. 1900. Febr. p. 42—43.)

Rick, J., Eine neue Sklerotinia Art. (Oesterr. botan. Ztschr. 1900. No. 4. p. 121—122.)
Stahl, E., Der Sinn der Mycorhizenbildung. Eine vergleichend-biologische Studie. (Jahrb. f. wissenschaftl. Botanik. Bd. XXXIV. 1900. Heft 4. p. 539—668.)

Beziehungen der Bakterien und Parasiten zur unbelebten Natur.

Luft und Wasser.

Abba, F., Sulla necessità di dare maggiore uniformità alla tecnica dell' analisi batteriologica dell' acqua. (Riv. d'igiene e san. pubbl. 1900. No. 10. p. 343—359.)
Causse, H., Sur la présence de la tyrosine dans les eaux des puits contaminés. (Compt. rend. de l'acad. d. scienc. T. CXXX. 1900. No. 18. p. 1196—1198.)
Hanriot, Les eaux de rivières filtrées. (Annal. d'hygiène publ. et de méd. navale. 1900. No. 5. p. 442—445.)
Maccagno, L., Sterilizzazione industriale delle acque potabili con l' ozono. (Riv. d' igiene e san. pubbl. 1900. No. 10. p. 337—342.)

Nahrungs- und Genußmittel, Gebrauchsgegenstände.

Milch, Molkerei.

Georgii, H., Ueber die Entwickelung unserer gegenwärtigen Milchkenntnisse in ihren Beziehungen zur Milchhygiene. (Med. Korrspdzbl. d. Württemb. ärztl. Landesver. 1900. No. 18. p. 205—208.)

Wein, Weinbereitung.

Meifsner, R., Ueber die Anwendung der Reinhefe beim Umgären fehlerhafter Weine. (Mitteil. üb. Weinbau u. Kellerwirtsch. 1900. No. 5. p. 66—70.)

Andere Nahrungs- und Genußmittel.

Serena, M., Sui veleni ed antiveleni del mais guasto. (Annali d' igiene sperim. Vol. X. 1900. Fasc. 1. p. 39—47.)

Beziehungen der Bakterien und Parasiten zu Pflanzen.

Krankheitserregende Bakterien und Parasiten.

d'Anchald, H., Le nématode et les sels ammoniacaux. (Journ. d'agricult. prat. 1900. No. 20. p. 711—712.)
Buckton, G. B., The pear-tree Aphis, Lachnus pyri, Buckton, with introductory note by E. E. Green. (Ind. mus. notes. Vol. IV. 1899. No. 5. p. 274—276.)
Chittenden, F. H., The bronze apple-tree weevil (Magdalis aenescens La.). (U. S. Departm. of Agricult. Div. of entomol. 1900. Bullet. 22. N. S. p. 37—44.)
Coquillet, D. W., Two new Cecidomyians destructive to buds of roses. (U. S. Departm. of Agricult. Divis. of entomol. 1900. Bullet. 22. N. S. p. 44—48.)
— —, A new violet pest (Diplosis violicola n. sp.). (Ibid. p. 48—51.)
Couanon, G., Michon, J. et Salomon, E., Nouvelles expériences relatives à la desinfection antiphylloxérique des plants de vignes. (Bullet. du minist. de l'agricult. Paris. 1900. No. 1. p. 135—136.)
Crié, L., Rapport sur la maladie des châtaigniers dans les Alpes occidentales (Savoie, Valais). (Bullet. du minist. de l'agricult. Paris. 1900. No. 1. p. 120—134.)
Delacroix, G., Les maladies du caféier. (Belgique colon. 1899. p. 581—582, 594—595.)
Enfer, V., Destruction des mousses aux arbres fruitiers. (Nos jardins et nos serres. 1899. p. 5.)
Garman, H., The elms and their diseases. (Kentucky agricult. experim. stat. of the State College of Kentucky Bullet. No. 84. 1899. p. 53—75.) Lexington, Kent. 1899.
Gerber, Sur un phénomène parasitaire observée sur les fleurs de Passerina hirsuta D. C. (Ingénieur agricole de Gembloux. 1899. p. 752.)
Giard, A., La maladie des platanes à Paris. (Bullet. d'arboricult. et de floricult. potagère. 1899. p. 356—359.)

Gründler, P., Die Spargelfliege und ihre Bekämpfung. (Amtsbl. d. Landwirtschaftskammer f. d. Reg.-Bez. Kassel. 1900. No. 11. p. 83.)

Journée, C., Résultats des expériences sur la destruction des senés par les aspersions de sulfate de fer et de sulfate de cuivre. (Agronome. 1899. p. 435—436.)

Kudelka, F., Ueber die zweckmäßigste Art der Anwendung künstlicher Düngemittel zu Zuckerrüben und ihre Beziehung zum Wurzelbrand. (Blätter f. Zuckerrübenbau. 1900. No. 8 p. 113—121.)

Kulisch, Zur Bekämpfung des Oidiums am Rebstock vor dem Austreiben desselben. (Landwirtschaftl. Ztschr. f. Elsaß-Lothringen. 1900. No. 17. p. 238—239.)

Pacottet, P., L'oïdium dans la Bourgogne. (Rev. de viticult. 1900. No. 332. p. 473—476.)

Paddock, W., The New York apple-tree canker. (New York agricult. experim. stat., Geneva, N. Y. Bullet. No. 163. 1899. p. 179—206.)

Prillieux et Delacroix, Rapport sur une maladie des pruniers dans l'Arrondissement de Villeneuve-sur-Lot. (Bullet. du minist. de l'agricult. Paris. 1900. No. 1. p. 67—75.)

Rodigas, E., Microben bij de bloemen. (Tijdschr. over boomteeltkunde. 1899. p. 249.)

v. Schilling, Die Riesenholzwespe. (Prakt. Ratgeber im Obst- u. Gartenbau. 1900. No. 16. p. 157—158.)

Seelig, W., Erfolgreiche Bekämpfung des Traubenpilzes. (Proskauer Obstbau-Ztg. 1900. No. 4. p. 49—51.)

Stewart, F. C. and **Blodgett, F. H.**, A fruit-disease survey of the Hudson valley in 1899. (New York agricult. experim. stat., Geneva, N. Y. Bullet. No. 167. 1899. p 275—308.)

Weiſs, Zur Frage der Kiefernschüttebehandlung mit Kupfermitteln. (Prakt. Blätter f. Pflanzenschutz. 1900. Heft 4. p. 28—29.)

Entwickelungshemmung und Vernichtung der Bakterien.

van Slyke, L. L., Report of analyses of Paris green and other insecticides. (New York agricult. experim. stat., Geneva, N. Y. 1899. Bullet. No. 165. p. 223—232.)

Inhalt.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.

Centralblatt

für

Bakteriologie, Parasitenkunde u. Infektionskrankheiten.

Zweite Abteilung:

Allgemeine, landwirtschaftlich-technologische Bakteriologie, Gärungsphysiologie, Pflanzenpathologie und Pflanzenschutz.

In Verbindung mit

Prof. Dr. **Adametz** in Wien, Prof. Dr. **J. Behrens** in Karlsruhe i. B., Prof. Dr. **M. W. Beijerinck** in Delft, Geh. Regierungsrat Prof. Dr. **A. B. Frank** in Berlin, Dr. **v. Freudenreich** in Bern, Privatdocent Dr. **Lindau** in Berlin, Prof. Dr. **Lindner** in Berlin, Dr. **Morris**, Chef des Hansen-Laboratory, Jenner-Institute of Preventive Medicine in London, Prof. Dr. **Müller-Thurgau** in Wädensweil, Dr. **Erwin F. Smith** in Washington, D. C., U. S. A., Prof. Dr. **Stutzer** in Breslau, Prof. Dr. **Wehmer** in Hannover, Prof. Dr. **Weigmann** in Kiel und Prof. Dr. **Winogradsky** in St. Petersburg

herausgegeben von

Dr. O. Uhlworm in Cassel

und

Prof. Dr. Emil Christian Hansen in Kopenhagen.

Verlag von Gustav Fischer in Jena.

VI. Bd. Jena, den 14. August 1900. **No. 15.**

Jährlich erscheinen 26 Nummern. Preis für den Band (Jahrgang) 20 Mark. Preis für eine einfache Nummer 75 Pfg., für eine Doppelnummer 1 Mark 50 Pfg. Nummern mit Tafeln kosten für jede Tafel 50 Pfg. mehr.

Hierzu als regelmäſsige Beilage die Inhaltsübersichten der I. Abteilung des Centralblattes.

Wünsche wegen Lieferung von besonderen Abdrücken wollen die Herren Mitarbeiter auf die Manuskripte schreiben oder bei Rücksendung der ersten Korrekturabzüge der Verlagsbuchhandlung mitteilen.

Original-Mitteilungen.

The Foul Brood of Bees. Bacillus alvei (Cheshire and W. Cheyne).

By **Francis C. Harrison**, Ontario, Canada.

With 4 figures.

(Continuation.)

V i t a l i t y o n v a r i o u s m e d i a. The cultures seem to live longer on agar than in liquid media. The vitality of old gelatine and bouillon cultures seem to be lessened by the products of the

bacilli growing in these media. The spores taken from these sources have also decreased resisting power.

Effect of growth on reaction of media. In ordinary bouillon the media becomes slightly more alcaline, the presence of ammonia being tested by Nessler's reagent, control bouillon not giving the reaction. In bouillon with the addition of glycerine and various sugars the acidity of the media is increased, more in the case of glucose broth than in any other. In these experiments accurate titration was made with phenolphtalein as indicator. Cheyne tried the reaction "making the infusions faintly alkaline, and after the growth of this organism in it, it is faintly alkaline".

Sensitiveness to antiseptics and germicides. This subject is taken up in connection with the chemical remedies used against the disease.

Pathogenesis. Besides being pathogenic to the larvae of bees, Cheyne has inoculated two mice and one rabbit with spore bearing cultivations without effect. "Half a syringeful of a spore bearing cultivation injected into the dorsal subcutaneous tissue of each of two mice resulted in the death of one of them in 23 hours. The other seemed unaffected. In the case of the mouse which died, the seat of injection and the neighbouring cellular tissue was found to be very oedematous, but no microscopic changes were apparent in the internal organs. Numerous bacilli were found in the oedematous liquid, as also a number of spores which had sprouted, and there were also a few bacilli in the blood taken from the heart. This was proved by cultivation as well as microscopic examination.

On examining sections of various organs no morbid changes were found, and only a few bacilli were seen in the blood vessels. A syringeful of the same culture was injected into a guinea-pig. This animal died 6 days later with extensive necrosis of the muscular tissue and skin, and cheesy looking patches were distributed through it. There was no true pus. On making sections of the necrosed tissue, numerous bacilli apparently B. alvei were seen, but there were also other bacilli and micrococci. No microorganisms were seen in the internal organs. It thus remains questionable whether the necrosis was due to B. alvei or not, more especially as I have suice injected three guinea-pigs subcutaneously with spore bearing cultivations, but without effect.

"The effect of feeding flies with material containing spores results in death of the flies, and bacilli were found in its juices as shewn by the microscopic examination and cultivation. Cockroaches were not killed" (28).

Blow fly larvae fed for three days on spores were not killed. With regard to the prevalence of the disease amongst wild bees, very little can be found on this subject in bee literature, but a correspondent of the British Bee Journal (43) found the disease among wild bee larvae in a tree, recognising it by the smell from the entrance and also from the appearance of the brood in the combs. The correspondent remarks that this tree had probably in former years, been the cause of a great deal of trouble to neighbouring bee keepers. In

all probability the disease is present among other varieties of wild bees and wasps. (It is true that Knight [54] mentions an epidemic among wasps in 1807: Kirby and Spence [55] another in 1815; and Bevan [13] one in 1824, but in all these cases no positive evidence can be cited to shew that the epidemic was foul brood.)

Economic aspects.

Losses. Della Rocca (l. c.) in 1790 stated that the whole of the bees in the Island of Syra were carried away during 1777 to 1780 by the disease. Dzierzon (46) relates his losses from the disease, and in 1868 lost his entire apiary of 500 colonies from it. In Switzerland the disease, at times is extremely bad, Bertrand's apiaries have suffered severely, and the German papers bear constant reference to its devastation. In England, Cowan (4) thinks that the "only visible hindrauce to the rapid expansion of the bee industry is the prevalence of this pestlential disease which is so rapidly spreading over the country as to make bee-keeping a hazardous occupation"; and again (47). "So rapidly has foul brood spread by contagion that in one season, unless precautions are taken, a whole neighbourhood may become seriously infected, and the chances of successful beekeeping seriously imperilled, if not utterly destroyd".

The comittee on the Beekeeping Industry and Foul Brood in the United Kingdom, report, that the destruction of stocks by foul brood and the discouragement arising therefrom, as one of the two influences that retard the development of the bee industry.

In the United States serious harm has been done, but no definite, statistics can be cited. The disease causes serious losses and several states have enacted laws for the prevention of the disease, making it a legal offence for a person to keep in his apiary a colony of bees affected with foul brood.

In Canada, the Ontario Foul Brood Inspector (56) reports in the years 1890—1892 inclusive, 622 apiaries inspected and 2395 cases; in the years 1893—1898, 527 apiaries inspected and the disease present in 212, or about 40 per cent.

In New Zealand and Australia the disease is looked upon as being very wide spread. It will thus be noticed that whereaver bees are kept, serious losses are caused annually by this disease.

Natural method of infection. With regard to the natural methods of infection, a good deal depends on the natural predisposition of the bees to disease, and the state of health of the colony. Weak, sick, or badly nourished bees, as a rule, are more susceptible. We must also remember that the germs themselves vary in their ability to produce disease. Just as in diphtheria we may get a light or severe type of the disease, so also in foul brood we may get a light or severe attack. The facts demonstrating the variability of this capacity are not well known but, I have noticed that after prolonged cultivation of B. alvei in which more than 30 transfers have been made, and the bacteria with spores then given to the bees in syrup, that the virulence of the germ seemed to be considerably decreased. Although the colony was rather weak, confined to the hive all day

and allowed flight only in the evening, and although the spores were given in large quantities in syrup every day, yet it was several weeks before the disease established itself, and then only in a light form. Accordingly, we may have mild or severe epidemics and the natural predisposition to disease may be increased by chilling the bees, or otherwise unfavourably modifying their metabolism. In such cases the bees may succumb more easily to the disease than when in a normal healthy condition.

With regard to the manner in which the disease in carried from hive to hive, Cheshire (26) thinks that the larvae are most usually affected by the antennae of the nurse bees, and also that the tramp of the bees frequently detaches numbers of spores, which fly about in the air and settle here and there, often where they take effect. I think that compared with other diseases which are air borne there is less danger from this cause with B. alvei. The spores are usually found in very sticky surroundings, which even if dry serve to keep or fix them in situ. Cheshire also states that he has not found the bacillus from honey or pollen in infected hives. This statement is directly contradicted by the experience of practical bee keepers and others. I have repeatedly found B. alvei in diseased hives, in capped honey cells, and in the pollen masses, the examination in the former case being made by renoving the capping with sterilised forceps and plunging a heated platinum needle therein, and inoculating it into melted agar, from which plates were poured, cooled, and incubated. Probably the chief method of carrying the disease from one hive to another is by the robbing of bees from healthy hives, from colonies that have become weak and diseased, and the robbers thus carry off with them the germs of the disease. There is likely, nothing to be feared from using wax for foundation from the regular makers, for, as I have already noted, the wax is subjected to a high temperature sufficient to kill any spores that may be present.

I have found spores of B. alvei in wax, in two samples sent me by R. F. Holtermann of the Canadian Bee Journal. These samples were from hives which were extremely badly infected with the disease.

In 1897 about 10 pounds of wax were infected with large numbers of spores grown upon agar. The wax was cut up into small pieces, and heated at a low temperature, only just sufficient to melt it, and as Mc Kenzie (28) had shewn that the spores settled to the bottom, the wax was vigorously stirred, from the time the spores were added until it had set again. This infected wax was sent to Holtermann, who melted it, as above described, and from it made foundation and supplied it to the bees. No foul brood developed in the colony supplied with this infected wax during the years 1897 and 1898. The probability is that the spores are fixed in the wax, and are thus unable to infect the bees.

Healthy bees may pick up spores of B. alvei from flowers previously visited by diseased bees, and wasps which are noted robbers may also carry the spores of the disease, and thus infect a locality.

The very large traffic in bees and beekeeping supplies where apiculture is carried on, probably favours the spread of the germ and many instances are cited in bee journals of infection being carried from one locality to another by the importation of either bees or bee supplies.

Persons manipulating diseased hives and then examining healthy ones may be the means of spreading the disease. The practise of using a knife for cutting out diseased comb and then using the same knife for work amongst healthy comb (which I have seen done) is by no means wise, as the spores may thus be transferred from one place to another.

Cowan (4) also notes that beekeepers who have not succeeded with their bees in consequence of foul brood have been known to sell by auction hives in which the bees have died; the purchasers being frequently beginners who have no idea of the danger they are incurring.

Conditions favouring the spread of the disease. Besides the weak or badly nourished condition in which bees may be and lack of other hygienic conditions which favour the spread of this disease, great humidity in winter is said to be favourable and probably great heat is also conducive (45).

Predisposition of varieties. No definite statements can be made as to the predisposition of various races to this disease. Quinby (49) states that black bees become more easily diseased than Italians, Aspinall (51) also affirms that common bees are more subject to foul brood than Italians; but on the other hand de Layens (47) states that Italians become more easily diseased than black bees.

Remedies.

There may be said to be three methods used for attempting to cure this disease.

1. The stamping out system.
2. The starvation methods.
3. Treatment by chemicals. (a) By feeding chemicals in food; (b) by putting certain chemical substances in the hive which evaporate at the temperature of the hive. This latter method may be regarded as rather preventive than curative.

1. Stamping out system. In the stamping out system, affected bees, combs, and frames must be destroyed, and the hives thoroughly disinfected. Cowan (4) thinks that if foul brood were under government inspection, and all cases promptly dealt with by destruction, the disease could be stamped out. The British Beekeepers Association have asked the Board of Agriculture to bring this about, as by this means the industry would receive an impetus which would benefit beekeepers, farmers, and fruit growers.

The earliest advocate of this system was Della Rocca (18), who recommended "in extreme cases that it was necessary to burn every thing without pity, as there was no other resource". Since Della Rocca's time this method of treatment has been frequently resorted to in severe cases that would not yield to treatment, either

by the starvation or chemical cure methods. This method to have any lasting effect would have to be universally carried out, and it brings up the difficult subject of compensation.

2. Starvation methods. The starvation method was first put forward by Schirach (3) who advised the combs to be removed and the bees allowed to fast during two days, after which they can be introduced on to clean new combs, and fed on a syrup prepared with a little hot water mixed with honey, nutmeg and saffron. Since Schirach's time different modifications of this method have been put forward and have been largely used in the United States and Canada, whilst in Europe treatment by medicated syrups is more largely in vogue. In modern times L. C. Root (58) re-introduced the starvation method. He advised that the bees be confined in a cool, dark place for 24 hours, that all the honey they carry with them may be consumed. The bees are then put into a hive filled with healthy combs or foundation and the condemned hive scalded with boiling water and scraped. McEvoy (44) the Ontario Provincial foul brood inspector employed later another modification. This method as described by the author is as follows. "In the honey season, when the bees are gathering freely, remove the combs in the evening and shake the bees into their own hives; give them frames with comb foundation starters and let them build comb for four days." The bees will make the starters into comb during the four days and store the diseased honey in them, which they took with them from the old comb. Then in the evening of the fourth day take out the new combs and give them comb foundation to work out, and then the cure will be complete. By this method of treatment all the diseased honey in removed from the bees before the full sheets of foundation are worked out.

All the old foul brood combs must be burned or made into wax after they are removed from the hives, and all the new combs made out of the starters during the four days must be burned or made into wax, on account of the diseased honey that would be stored in them.

All the curing or treating of diseased colonies should be done in the evening, so as not to have any robbing done or cause any of the bees from the diseased colonies to mix and go with bees of sound colonies. By doing all the work in the evening it gives the bees a chance to settle down nicely before morning and then there is no confusion or trouble.

This same method of curing colonies of foul brood can be carried on at any time from May to October, when the bees are not gathering any honey by feeding plenty of maple syrup in the evenings to take the place of the honey flow.

It will set the bees robbing and spread the disease to work with foul broody colonies in warm days, when bees are not gathering honey, and for that reason all work must be done in the evenings, when no bees are flying.

"Where the diseased colonies are weak in bees, put the bees in two, three or four together, so as to get a good sized swarm to start

the cure with, as it does not pay to spend time fussing with little weak colonies.

"When the bees are not gathering honey, any apiary can be cured of foul brood by removing the diseased combs in the evening, and giving the bees frames with comb foundation starters on. Then, also, in the evening feed the bees plenty of sugar syrup, and they will draw out the foundation and store the diseased honey which they took with them from the old combs; in the fourth evening remove the new combs made out of the starters and give the bees full sheets of comb foundation and feed plenty of sugar syrup each evening until every colony is in first class order.

"Make the syrup out of granulated sugar and put one pound of water to every two pounds of sugar, and then bring it to a boil. As previously stated, all the old combs must be burned or made into wax when removed from the hives, and so must all the new combs made during the four days.

"The empty hives that had foul brood in them do not need any disinfectant in any way. I have handled many hundreds of colonies in the Province of Ontario, and cured them of foul brood without getting a single hive scalded or disinfected in any way, and these colonies are cured right in the same hives."

Mc Evoy postively states that "No colony can be cured of foul brood by the use of any drug. All the old combs must be removed from every diseased colony and the hive got away from the bees before brood rearing is commenced in the new clean combs."

Howard (40) is most emphatically opposed to the drug treatment. "I regard the use of any and all drugs in the treatment of foul brood as a useless waste of time and material, wholly ineffectual, inviting ruin and total loss of bees. Any method which has not for it object the entire removal of all infectious material beyond the reach of both bees and brood will prove detrimental and destructive and surely encourage the recurrence of the disease."

A. I. Root (45) considers that "the starvation plan in connection with burning the combs and frames and boiling the hives, has worked best in treating foul brood. It never reappeared after such treatment, though it did in all the cases where the hives were not boiled, thus confirming the theory or fact of spores." These two last authors, therefore, do not agree with Mc Evoy, as they both advise the disinfection of the hive.

Mc Evoy (56) however admits that this method cannot be used for every case, as his reports frequently refer to burned colonies, and he acknowledges that his method does not always cure, as he says in 1890. "600 cases of foul brood and over 360 cured" and again in subsequent reports, after mentioning the number of cases, he adds "mostly cured".

In a personal communication. M. Bertrand of Nyon, Switzerland, states he does not believe in and will not recommend in his periodical (Revue Internationale d'Apiculture), the starvation method as used in America.

3. Treatment by chemicals. In the treatment of bees by

chemicals, we assume that such substances as are used, are employed as antiseptics, and that their efficiency is due to the fact that they destroy the bacillus or prevent the germination of the spores, and thus bring about an internal disinfection. But we must remember that many of the substances used are more poisonous towards the cells of the bee than towards B. alvei. As is well known, quinine is used as a specific for malaria, and the cure is effected by the intervention of the body cell, and the remedy acts because it acts as a stimulus and exalts the natural forces of the body.

Whether the drugs used in the different treatments of foul brood act antisepticulty or by stimulating the cells of the bee and making them more active to ward off the disease, is a matter of doubt, but certain drugs do seem to be able to bring about a cure, and some of these substances are regarded as specifics by beekeepers.

In taking up the different methods of chemical treatment. I shall as far as possible describe them in the chronological order.

Carbolic acid. Carbolic acid was first recommended by Butlerow (52), who recommended one part of acid to 600 of syrup, this proportion being the limit in which one can give this remedy to bees. Cech (53) in a work published in 1877 also recommended carbolic acid.

The Cheshire treatment (26) consists in using a syrup containing half a decilitre of phenol, in a litre of water thoroughly shaking it up until the acid is entirely dissolved, and using half a decilitre of this in a litre of syrup. In addition, it is necessary to reduce the infected stock to the number of frames it can use, and if the queen is diseased, destroy her, and substitute a healthy one.

The syrup is given by pouring it into the empty cells of the brood nest. This treatment by carbolic acid has been reported to be successful, but many failures partly owing to the fact that it is difficult to make the bees take it.

Experiments in the antiseptic value of carbolic acid. According to Mc Kenzie (28) 2 % carbolic acid does not kill the spores in 6 days. One per five hundred of the acid prevented the germination of the spores, which, when taken out of the solution and placed in ordinary beef broth gave luxuriant growth. Thus, Mc Kenzie thinks that the explanation of the value of carbolated syrup in the treatment of foul brood is in preventing the germination of the spores. The bee journals contain numerous examples, where feeding carbolated syrup, produced an improvement in a diseased stock, but as soon as it was stopped the disease broke out.

Salycylic acid. The salycylic acid treatment was first used by Hilbert in 1876. The following is the method of use:

Solution of Hilbert No. 1 — Pure salycylic acid $12^1/_2$ grams; alcohol 100 grams.

Solution of Hilbert No. 2 — 200 drops of solution No. 1 (about 5 grams) in 200 grams of distilled water or rain water.

Fumigation — One or two grams of the pure acid for fumigation.

Syrup — From 200 to 240 drops of solution No. 1 (or about 5 to 6 grams) in a litre of syrup, well mixed before the syrup cools.

As soon as the disease is noticed the hive is disinfected and the syrup fed; and this treatment is also used for other colonies as a preventive treatment. The fumigation is accomplished in a kind of tin lantern furnished with a small alcohol lamp, suspended over which is a small moveable trough for placing the acid in. The flame of the lamp is regulated in such a manner that the acid is liquefied and slowly evaporated without burning. Too great heat will decompose it and render it without effect. The fumes of the acid spread through the hive in the form of a white vapour. Whilst the fumigation is being accomplished, the entrance boards and all parts that can be disinfected are washed with No. 2 solution. Fumigation and washing are repeated every 4 or 5 days until cured. The diseased colonies receive every second evening $^1/_6$ of a litre of acid syrup, and it is wise to give the same treatment to the neighbouring hives. Cure usually ensues at the end of 3 or 4 weeks, but if later it is usually a sign that the queen is diseased, and it would be better to replace her. Occasionally the queens die during the treatment, but this is not frequent.

This treatment was very successful in diseased hives belonging to Bertrand (59). All the hives that were treated were cured. Cowan (60), who has also used Hilbert's treatment with some slight modifications has had the same success, and such is the confidence which this treatment has inspired. that he does not fear to introduce into his apiary, foul brood colonies from a neighbour to treat. Bertrand also thinks (59) that although some deny the efficacy of the treatment, they have not followed the treatment properly, and have without doubt neglected certain precautions.

Experiments on the antiseptic value of salycylic acid. Salycylic acid agar was made containing 5 grams of a $12^1/_2$ % solution of salycylic acid in one litre of agar. Petri plates were made from this and streaked on the surface with B. alvei. At the same time control cultures on ordinary agar were made. The results were abundant growth on the control plates, and good growth (but somewhat less than on the control plates), on the salycylic acid agar.

Salycylic acid vapour. One gram of the acid was evaporated according to the directions given by Bertrand (59), in a box about the same size as a hive. Agar plates streaked with spores of B. alvei were left in different parts of the box during the fumigation for 10 minutes. The plates were then taken out, the covers put on and then incubated at 37° C for 48 hours.

Results: Fumigated plates — no growth.
Control plates — abundant growth.

From these experiments, it will be seen that the vapour acts antiseptically, and that the feeding of the acid in the syrup in the proportions specified probably acts as a stimulant to the bees.

Camphor. Ossipow (61) was the first to use camphor as a curative. "There is placed upon the bottom board of the hive, enveloped in a piece of muslin, a piece of camphor about the size of a walnut, which is replaced when it has evaporated. The presence of

the camphor permits the bees to clean out the cells containing dead larvae and stop the development of the disease. So long as a hive contains some of this substance foul brood will not develop, at least according to our experience and to that of several other beekeepers. The first thing to do, then, when one doubts the state of health of a colony is to employ the Ossipow remedy before proceeding to more radical means. One can administer camphor in food by dissolving it in its own weight of alcohol" Bertrand (59).

Experiments on the antiseptic value of camphor. Sloped agar in tubes was inoculated with one loopful of spores of B. alvei, and a crystal of camphor about the size of a large pea was dropped into the tube. The tubes were then capped with tin foil paper and kept at 22 ⁰ C and 37 ⁰ C. Control cultures were made at the same time. At 22 ⁰ C after two days, there was good growth in the camphor tube. At 37 ⁰ C after two days, compared with the control tube, the camphor tube shewed slight restriction of growth, the extra heat having evaporated the camphor more quickly.

Another series was made using agar Petri plates streaked with 2 loopsful of spores. In each plate was placed a portion of camphor about the size of a large pea. The plates were incubated at 37 ⁰ C. In 24 hours there was good growth, but close to the lump of camphor, growth was slightly inhibited.

Thus, camphor in the quantity in which it would be kept in the hive will have no antiseptic effect, the amount used in the experiments being in far larger quantities than would be used in a hive. This substance, therefore, if it has the effect mentioned by those who have used it, must act as a stimulant, strengthening the bees to overcome the disease.

Thyme. Klempin (62) has used with success branches of dry thyme, burning them in the smoker for disinfecting his hives, but their effect, as that of camphor, is not radical, and beekeepers are not at all in accord upon the efficacy of this substance.

In connection with thyme, thymol may be mentioned. Zehetmayr (63) has recommended the use of thymol, and made a little machine by which he steamed the bees with this substance, and it might be used by placing a little of it in a hive and thus prevent infection, because bees from uninfected hives will not come near it. The bees object to the smell of this substance until they become accustomed to it. Blow (63) thinks it very valuable, but Cowan criticises its use because it is disagreable to bees, and if used in sufficient quantity acts as a poison, and therefore cannot be good in food. Jones (65) remarks that thymol prevents even in great dilution the growth of the germ.

Experiments of the antiseptic value of thymol. Crystals of thymol were placed in test tubes of sloped agar inoculated with one loopful of spores of B. alvei. These were capped with tin foil paper and incubated at 22⁰ and 37 ⁰ C.

Result. Control tubes — abundant growth.
Thymol tube at 22⁰ C — slight growth.
" " " 37⁰ C — very slight growth.

Agar plates poured and streaked with two loops ful of spore of B. alvei were used in another experiment, and in each plate was place a portion of thymol the size of a large pea. The plates were incubated at 37° along with control plates, with the following results:

24 hours, Control plate — abundant growth.
Thymol plates — good growth, but close to the lump, no growth.

This substance has, therefore, a very slight antiseptic effect.

Carbolic acid and tar. These substances were first used by Schreuter (66) and they are applied as follows. — " A piece of felt wool in placed in a small box, and soaked with a mixture of carbolic acid and Norwegan tar, in equal proportions. The cover of the hive is slightly raised in order to permit of the evaporation of the carbolic acid. The box is left upon the platform of the hive beneath the brood, and remains there permanently. The dose can be renewed as often as required. The addition of tar to the acid is for the purpose of making evaporation take place more slowly." This remedy has not been used to a very great extent, but Borel (67) reports success with this remedy, but others have not had the same results. Doubtless it can be used only as a preventive.

Experiments on the antiseptic value of carbolic acid and tar. Four drops of the mixture placed on blotting paper and inserted in a Petri dish containing agar streaked with spores, inhibited growth; thus the mixture is antiseptic.

Creolin or phenyle. Creolin has been recommended by Cowan (68) and has been used with success by other apiculturists.

Recipes. Solution No. 1. For sprinkling, disinfecting, etc. Half a treasporuful of soluble creolin in a litre of water.

Solution No. 2. For washing hives, platforms, etc. Two teaspoonsful of soluble creolin to a litre of water.

Solution No. 3. For feeding. A quarter of a teaspoonful of solube creolin in a litre of syrup.

The water of the syrup ought always to be poured upon the top of the creolin, and thoroughly mixed, and should be well shaken before using.

Employment. Prepare a hive and a proper floor board, which has been washed with solution No. 2. Then after having taken out the comb from the infected hive, shake off the bees, and sprinkle the comb with solution No. 1. Take out all superfluous comb and spray it with solution No. 2, and extract the honey from it. The honey can then be boiled, and if one employs it for feeding the bees, it can be diluted and phenol added in the proportion of one quarter to a teaspoonful to a litre of the diluted honey. The combs are then put back and the bees fed with medicated syrup. If the bees accept it the dose can be gradually increased, but one should be careful not to give more than one teaspoonful to a litre of syrup. If the bees refuse to touch it, which is not at all improbable, if they have access to other food, pour the medicated syrup upon the neighbouring combs, when the bees will quickly become habituated to it, and afterwards will take it in the ordinary manner. The vapour

of creolin also acts as a disinfectant, and a small phial of concentrated creolin may be placed in a corner of the hive, and lightly stoppered with a cotton plug, the lower part of which being in contact with the liquid, capillarity will then take place and draw up the creolin, and the heat of the hive will produce the necessary evaporation. A piece of blotting paper can be used, by saturating it with creolin, and placing it upon the floor board in a box covered with perforated zinc, so that the bees will not come into contact with the disinfectant.

Creolin is neither poisonous or corrosive for man but in strong doses kills insects, consequently it is necessary not to give greater strengths than those mentioned above. In connection with this remedy it is also necessary to stimulate the production of brood by feeding liberally with medicated syrup, and if the disease does not yield to this treatment the queen should be removed.

Experiments on the antiseptic value of creolin.

1. Sloped agar, each tube inoculated with one loopful of spores, was plugged with cotton wool saturated with creolin, and then capped with lead foil. Tubes were kept at 22° and 37° C.

Result. After 4 days at 22° C — no growth, except beneath the condensation water in the tubes.
After 4 days at 37° C — no growth.

At the end of this time new cotton plugs were inserted into the tubes in the place of the creolin ones, and the cultures again incubated, when good growth ensued in 24 hours.

2. Agar plates were made and streaked with two loopsful of spores. In each plate was placed a square inch of thick blotting paper with four drops of creolin thereon. The plates were kept in the incubator at 37° C, and removed in 48 hours when very slight growth was manifest; on removal of the creolin and further incubation of the plates, good growth was obtained. Control plates gave copious growth. These experiments were repeated using only one drop of creolin.

Result, after 24 hours — abundant growth. Using two drops of creolin the growth was restricted to the inoculation track after 48 hours at 37° C.

3. In addition to the above experiments, agar was made containing the same proportion of disinfectant as was used in feeding the bees of diseased hives. 15 ccm of this agar was taken for making a plate culture, and several plates were streaked with two loopsful of spores, and incubated at 37°.

Strength of agar. — 2 ccm creolin to 1 litre of water, i. e. about half a teaspoonful to a quart.

Results. Creolin agar, four tests — no growth.
Control agar, abundant growth.

This antiseptic in the strength used by Cowan for feeding purposes, would prevent the germination of the spores, and if there was a large amount evaporating in the hive a slight antiseptic result would take place.

Eucalyptus. This substance was introduced by Beauverd (69). A small tin box with a cover pierced with small holes is placed upon the floor board of the diseased hive, and filled with essence of eucalyptus. The colony receives every 4 or 5 days a litre of syrup containing a teaspoonful of tincture of eucalyptus (oil eucalyptus 1, alcohol 9). Then from time to time some drops of the same tincture are dropped into the hive. Auberson the metayer of Bertrand's apiary, and who was managing his own higher up the mountains, cured a number of colonies by means of this method. He finds that there is a great difference in the effect produced by the remedy. In some cases the effect follows the remedy quickly, in others the effect is slower, sometimes more than a year passes without resulting in a complete cure. When the disease is of long standing the remedy must be proportional to the gravity of the evil. When there are only a few diseased cells, Auberson simply pours some drops of the essence along the back wall of the hive. Every 8 days the dose is renewed, and in 6 weeks sometimes sooner, the colony is cured. In cases where the hive is badly affected, he takes a clean hive and floor board, and impregnates with eucalyptus the interior, floor board, and division board, and then transfers combs, brood, and bees to the new hive. He leaves the foul brood colonies their rotten combs, as this is the only handy means of disinfecting them. Three weeks later, during which he has twice poured eucalyptus on the floor board, he examines the new brood. If it exists in healthy patches he simply pours a few drops of the essence on the floor board until the cure is complete. If, however, the fresh brood still disclose some diseased spots, the queen is killed and replaced by another, and every 15 days the essence is spread on the floor board until the cure is completed. If the colony is very weak it is necessary to strengthen it by the addition of bees and healthy brood. If he has to feed a diseased hive he never fails to put the essence in the syrup.

Besides the well authenticated case of this cure by essence of eucalyptus, there are a number of others and the method has been extensively used in Europe. The great draw back to the use of this remedy is, that it is liable to cause robbing.

Experiments on the antiseptic value of eucalyptus. 1. Eucalyptus oil. The cotton plug of a spore inoculated sloped agar tube was saturated with the oil, and incubated at 37° C. In 84 hours there was no growth. A fresh plug being inserted good growth occured in 24 hours.

2. Agar plates inoculated with spores, and containing 4 drops of eucalyptus on a piece of blotting paper, were incubated at 37° C. No growth formed, but when the eucalyptus was removed, good growth immediately ensued. On plates containing 2 drops, the growth was restricted to the inoculation track, but on removing the oil, abundant growth took place. On plates containing one drop of the oil on blotting paper, there was abundant growth in 24 hours.

3. Eucalyptus agar was made, using a teaspoonful (4 ccm) of tincture of eucalyptus to a litre of agar. Six plates were made with

eucalyptus agar, and each plate inoculated with spores, with the result that the growth on the medicated agar was only slightly less than that on the control agar. The medicated agar smelt slightly, but characteristically, of eucalyptus oil.

A Queensland (Australia) correspondent of the British Bee Journal (71) is of the opinion that no foul brood exists among bees in that country, and that the reason of this is, that the honey that goes into the combs is largely gathered from the eucalyptus, and that its medicinal qualities combat foulness in all forms. However, there is no confirmation of this evidence, foul brood being prevalent in Queensland.

Naphtol beta. Naphtol beta was first used as a remedy by Lortet (72). The treatment is a follows:

The drug is administered in the food in the proportion of $^1/_3$ of a gram to a litre. This $^1/_3$ of a gram is at first dissolved in a little alcohol in order to dissolve the substance, as it is extremely insoluble in water. Afterwards it is mixed in a litre of water, and this liquid is used for making the syrup. In England the usage is to dissolve the napthol in the sugar, the proportion being about 40 to 50 centigrammes to a kilo of sugar. The naphtol is preferably dissolved in alcohol. Lortet thinks that external treatment by means of fumigation or spraying is helpful, as these methods contribute largely to the disinfection of hives, comb, etc., but, as he believes, that it is always the digestive canal of the nurse bee which is infected, and that it is always by the act of feeding that the adult bee infects the digestive canal of the larvae, therefore all efforts should be directed to the digestive canal of the worker bees, and the treatment ought to be internal, and as energetic as possible. He states that when administered in the proportion of 0,33 gram per 1000 of liquid, it prevents all fermentation and decomposition, or other changes caused by microbes. In addition to using this preparation, first rate hygienic conditions are necessary, in order to give the bees vitality and recuperative power, which play an important part in enabling living organisms to resist the inroads of virulent microbes.

Mc Kenzie found that (28) a beef broth containing one per thousand of β-Naphtol would not allow spores of B. alvei to germinate, and consequently had an equal value with one per five hundred of carbolic acid. This remedy has been widely used and with success.

Experiments on the antiseptic value of naphtol beta. Naphtol beta agar was made the same strength as that recommended by Lortet for feeding, that is, 0,33 gram β-Naphtol to 1 litre of agar. Eight tests were made, in Petri dishes inoculated with spores of B. alvei. In no case did growth result, and thus, a dilution of one third of the solution used by Mc Kenzie completely inhibited growth. Naphtol beta agar containing 0,165 gram of the drug to a litre of agar was also tried. The result of a number of tests being that some growth took place in the medicated plates, and abundant growth on the control plates.

From these experiments, and also those of Lortet and Mc Kenzie, it will be seen that this substance has a strong antiseptic action.

Naphthaline. This substance is considered rather as a preventive than as a curative, although some cases are known when this substance alone has brought about a cure. A small quantity of the drug is placed on tho floor board of the hive, and as it evaporates quickly and with very strong odour, too much must not be used, otherwise the brood will be deserted by the workers and death of the bees might take place. A crystal about 2 cm. in diameter is put in the hive as far from the entrance as possible. As soon as it has evaporated, the dose is renewed.

This substance has been very favourably reported upon as a preventive by a number of writers, and Cowan (73) inspected very thoroughly a hive belonging to Mermey which had been cured by this substance.

Experiments. Crystals of naphtaline about the size of a large pea were put into test tubes, containing sloped agar, inoculated with one loopful of spores, capped with tin foil paper and kept at 22° and 37° C.

Results. After 48 hours, good growth in all tubes. Inoculated agar plates containing a crystal of naphtaline give good growth in 24 hours at 37° C, as did also control tubes and plates.

This substance has no antiseptic power and we must look upon its use rather doubtfully. Perhaps it may stimulate the bees.

Formic acid. This substance was first suggested by Dennler in 1885 (74), but he did not ascertain the strength in which it could be used. Sproule (75) stated that since the year 1882 he had treated foul brood with formic acid, and with success. He was the first apiculturist to use the remedy and give the treatment. The solution used is pure acid 10 parts, water 90 parts. The treatment is as follows:

A part of the comb is taken from the hive and as many bees as possible are shaken from the diseased comb, and then two or three empty combs are used, in one of the sides of which, 100 grams, of the solution are poured, holding it inclined so as to allow the liquid to run into the cells and stay there. These combs are placed on each side of the brood, the side containing the solution next the brood. Eight or ten days after an inspection is made, and if there is no cure the dose is renewed and continued every week until the cure is complete, which is often after the first treatment, and rarely resists two or three applications. To hasten the cure this remedy can be given in the food of the bees, a teaspoonful to a litre of syrup.

Experiments. Formic acid probably has an important role to play in the keeping properties of honey. As long ago as 1878 formic acid was found in honey, and Muhlenhoff (76) observed that when honey is not destined for immediate use the bee deposits in each cell a drop of formic acid, secreted by the venom glands, and then seals the cell. Erlenmeyer (77) says that formic acid

of the strength of 1,205 gram to a thousand parts of water is antiseptic. Planta (78) refutes Muhlenhoff's idea that 100 grams of sealed honey contain 0,0186 grams of 22 % formic acid. "100 grams is the capacity of 165 worker cells, but the smallest droplet of venom contains at least 0,0254 grams of formic acid, which would make for 165 cells 4,1910 grams; that is to say 200 times more than there is in reality." This opinion is however contrary to that expressed before by the same writer in the year 1884 (79).

Formic acid may perhaps help the bees to ward off an attack of the disease, especially if we supply it to them ready made. Two samples of clover honey and two samples of buckwheat honey were analized with the following results:

1.	Buckwheat honey	0,15	grams of formic acid in 100 grams of honey
2.	"	0,17	" " " " " " " " "
1.	Clover "	0,0579	" " " " " " " " "
2.	" "	0,057	" " " " " " " " "

Formic acid agar was then made containing the same proportion of formic acid as was found in the first sample of buckwheat honey, and weaker formic acid agar containing the same percentage of formic acid as was present in the first sample of clover honey. Spores inoculated on the stonger formic agar did not germinate, but on the weaker formic agar the germination was only slightly retarted, and after two days in the incubator there was large growth. A transfer of spores from the strong formic agar (after being in contact with it for 6 days in the incubator) failed to grow on the weaker formic agar for two days, but after four days in the incubator grew abundantly. The culture growing on the weaker formic agar was then transferred to the strong formic agar to ascertain wnether the germ could be accustomed to more unnatural food, by previous cultivation on the weak formic agar. This transfer was, however, unsuccessful.

The germs used in these tests were isolated from samples of diseased comb from Ontario, Austria, and Florida, U.S.A.

Formic acid bouillon was also made containing 0,15 % of formic acid. Spores kept in this broth for 8 months still continued to germinate when transplanted on to suitable material.

Formic acid agar was also made in the same proportion as suggested by Bertrand (59); that is formic acid 10, water 90. A tablespoonful of this mixture to a litre of syrup. Instead of syrup, agar was used. 15 ccm of this acid agar was poured into each Petri plate, and the surface inoculated with spores.

Results. On 4 plates — no growth.
" 2 " — very restricted growth, limited to $^1/_8$ of an inch of the needle track (60 hours).
Control plates — abundant growth.

(Conclusion follows.)

The Iowa State college sewage disposal plant.

By **L. H. Pammel, A. Marston** and **J. B. Weems.**

With one Figure and one Curve.

The proper disposal of sewage for small inland towns is a difficult matter since with few exceptions do perennial streams occur for the outlet of sewage. In the larger eastern towns it is easy to get an outlet. In Iowa the towns bordering on the Missouri, Mississippi, DesMoines and one or two other streams such outlets may be found. There are however many towns and cities in this state where such outlets cannot be had, an the only means of disposing this sewage has been in dry ditches, these cause cesspools and are a public nuisance and a menace to the health of the citizens of the community. In a long series of successful experiments the Massachusetts State Board of Health demonstrated the success of sand and gravel filtration.

These classical experiments have shown that sewage can be disposed of cheaply and most effectively by this system.

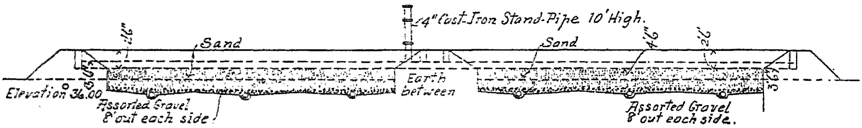
The plant was designed by Prof. Marston and the following general account is furnished by him. The cost was 2800 dollars. The are two filter beds, each bed is 55×150 feet having an area of about 0,2 of an acre and is made up of sand and gravel 4,5 feet deep over the under drains and 3,5 feet deep midway between them. The sewage is discharged into a receiving tank which is 22×56×4 feet having a concrete bottom, brick walls and a wood cover coated with tar and gravel. At the end of the tank where the sewage enters an area of about 8×20 feet is partitioned off for a settling chamber to receive most of the solids in the sewage. By division walls the sewage is compelled to flow slowly back and forth across this chamber for a distance of 60 feet, after which it passes through a screen into the flushing chamber. The flushing chamber has a capacity of 20 000 gallons and whenever the sewage in it rises to the high water line, the entire contents are discharged automatically by an automatic syphon, upon the filter beds.

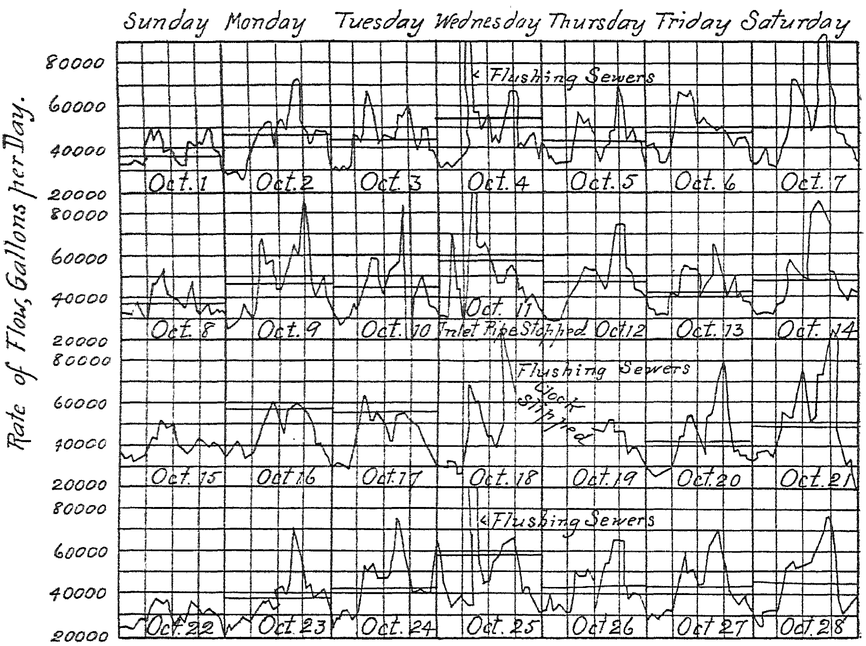
The average effective size of the sand and gravel is 0,33 mm for bed 1 and 0,37 for bed 2. The average uniformity coefficient is 10 for bed 1 and 7,1 for bed 2.

The sewage from the tank is brought in sewer pipes extending along two sides of each bed and flows out on the surface through twelve wooden gates for each bed. The effluent is removed by three tile drains under each bed and discharges into a small brook. A continous automatic record is kept of the rate of flow of sewage. The rate varies from month to month but the average is somewhat

1) Exp. Invest. State Bd. Health, Mass. upon the purification of sewage. 1888—1890. Pts. I—II. (Annual Report Mass. State Bd. Health. Vol. XXVI. p. 447; l. c. Vol. XXVIII. p. 425; Vol. XXIX. p. 437; Vol. XXX. p. 431.)

more than 40 000 gallons daily. Hence the rate of filtration is over 100 000 gallons per acre per day. About 600 persons contribute to the sewage, as well as waste from laboratories and a large creamery. The temperature records show that the sewage before it enters the receiving tank ranges from 47 ° F on October 17 to 78 ° F on September 5 and 27. The temperature in the flushing chamber ranged from 46 ° F on December 20 and 27 to 77,5 ° F on September 5. The temperature of the effluent has ranged from 39 ° F on January 7





to 76,5 ° F on August 29. At the depth of twelve inches in the filter beds the maximum temperature has been 79 ° F, at the depth of 24 inches 78 ° F at a depth of 36 inches 76 ° F all on July 21.

The chemical analyses made by Dr. J. B. Weems show some interesting results and are given in this connection. The following abstract is furnished by him.

In making a study of these samples it will be seen that the free and albuminoid ammonia are always high and the amounts present vary between wide limits. The results for the sample from the manhole must be taken as representing the condition of fresh sewage

of the College during the time it was taken. The tank and effluent, however, will give a much better idea as to the condition of the entire quantity of sewage, while the total quantity of ammonia present in the samples will give a general idea in making the comparison between the conditions of the substances present in the sewage and which furnished the ammonia. It has been found that the ammonia in both the free and albuminoid condition has been given from the samples in the manhole, or the fresh sewage, and in many cases it was out of the question to determine the point where the free ammonia ceased to be given off and where the reagents should be added for the determination of the albuminoid ammonia.

Another matter of interest in connection with the comparison of the material in the manhole and tank samples is that of the changes taking place during the heating of the solids. In heating the solid residues from these samples to 185 degrees, it is found that the residue from the manhole has a large amount of carbon or similar material. The residue of the sample from the tank at this temperature is generally nearly white or greyish in appearance. The difference in the manner of giving off the ammonia and the changes which the solids undergo during the heating process show that during the stay of the sewage in the septic tank there is a change which the material passes through, which renders it more easily acted upon by the chemical reagents and heat, and probably more easily changed by the organisms present in the filter beds (see table p. 500).

B a c t e r i o l o g i c a l r e s u l t s. — Bacteriological analyses were made daily of the effluent, and once a week samples were collected of the fresh sewage of the manhole, and of the sewage of the tank as it flows over the beds. No attempt has been made to determine the species except incidentally. In the effluent B. c o l i c o m m u n i s and B. c l o a c e a e were found during the early operation of the effluent. The B. c o l i c o l i c o m m u n i s has repeatedly been found in the manhole and tank, and S a r c i n a v e n t r i c u l i and S. a u r a n t i a c a were noted in the manhole.

The detail of collecting and determining the number of bacteria was in charge of senior students. For this work plain agar-agar was mostly used. The samples were all collected in sterilized test tubes and a known quantity of the samples was taken out with a sterilized pipette and placed in melted agar-agar, and poured in P e t r i dishes. In the early work parallel peptone gelatin plates were poured, but as these did not differ essentially from the peptone-agar-agar, the latter was used exclusively. The filter bed has been under observation for more than a year. During the first two or three weeks of the operation of the filter bed the bacteria were not removed very efficiently. From September 15 to October 1 the effluent had 656 200—1 250 800. The manhole October 1 had 750 000; tank 372 000; the effluent 656 000. Evidently biological filtration had not been operated sufficiently long to remove the sewage bacteria and the filter bed was not compact enough. The effluent gradually contained a smaller number of bacteria. On November 5 there were 12 200 bacteria per cubic centimeter. On December 1

Chemical analyses of sewage.

Date 1899	Kind of sewage	Chlorine	Solids			Ammonia		Nitrogen as		Oxygen consumed in	
			On evaporation	After heating to 185	On ignition	Free	Albuminid	Nitrites	Nitrates	15 minutes	4 hours
May 10	Manhole	88	1,182	1,147	1,040	36,7	22,8	0	t	81,6	129,6
	Tank	107	1,628	1,510	1,409	12,3	14,6	0	t	75,4	177,6
	Effluent	112	1,709	1,675	1,554	0,20	0,22	0,16	10,0	6,4	44,8
June 14	Manhole	94	1,569	1,505	1,305	55,6	20,3	0	0	56,0	204,8
	Tank	70	1,498	1,420	1,265	16,8	14,1	0	0	38,4	219,2
	Effluent	62	1,489	1,460	1,307	0,72	0,36	0,2	6,0	17,6	43,2
August 17	Manhole	107	0,879	0,776	0,604	49,7	30,6	0	0	105,6	206,4
	Tank	49	1,086	0,951	0,794	18,4	19,9	0	0	83,2	192,0
	Effluent	100	1,383	1,302	1,221	0,3	0,66	0,4	10,0	9,6	62,4
September 19	Manhole	67	1,141	1,024	0,950	56,5	22,7	1,0	0,2	136,0	307,2
	Tank	67	1,260	1,165	1,026	36,5	20,9	1,0	t	78,4	172,8
	Effluent	104	1,730	1,635	1,606	0,9	0,62	0,12	8,0	9,6	56,0
October 17	Manhole	70	1,421	1,347	1,212	16,6	9,6	0,4	0	16,0	145,6
	Tank	71	1,545	1,532	1,275	19,2	6,0	0	0	40,0	174,4
	Effluent	75	1,670	1,538	1,385	0,94	0,96	0,1	8,0	4,8	51,2
November 14	Manhole	71	1,867	1,752	1,419	16,3	7,4	0,4	0	35,2	251,6
	Tank	139	1,562	1,443	1,356	28,7	9,7	0	0	134,4	198,4
	Effluent	90	1,743	1,702	1,441	1,08	0,58	0,4	5,0	4,8	12,8

the manhole contained 3160000; the tank, 940000; effluent 22680 bacteria per cubic centimeter. From December 26 to January 2 the effluent did not run. On January 11 the manhole had 345864; tank, 31200; effluent 8600 bacteria. The filter bed was frozen on February 9, and the effluent was not obtained until April 30, when it contained 4075 bacteria. On May 3 the manhole had 194956; tank, 168600; effluent 11520. During the month of May the number of bacteria in the effluent fluctuated between 1770 — 18000. The efficiency of the west filter bed, which was sampled much more frequently than the east, is shown from the fact that the tank on June 28 contained 1108000 bacteria, and the effluent only 2640. The effluent worked very satisfactorily during the month of July. The lowest number found in the effluent of the west bed was 960 on July 2. The sewage discharge was then less owing to the college vacation. The efficiency of the east filter bed is also shown in the removal of bacteria. The manhole on July 5 had 708000; the tank, 814000, and the effluent,1280. On August 9 the number of bacteria in the manhole ran up to 3840000; tank, 1240000, effluent, 3000. September 5 an unusual number of bacteria, 9000000, were found in the manhole, and this continued through the entire month; September 12, 8600000; September 19, 7260000; September 27, 9600000. On September 5 the effluent of the west filter bed had only 600 bacteria. The effluent of the east filter bed on September 27 had 8160. On October 3, the number of bacteria in the manhole dropped to 4800000, with a few less in the tank. The effluent from the west filter bed contained 3720. There was no appreciable change in the manhole till October 24, when the number increased to 6760000. The effluent from the west filter bed had 3820 bacteria. There was a continuous rise till November 7, when the number dropped to 6800000; then the tank contained 4350000, and the effluent of the west filter bed 2040. The explanation of the rise and fall of the bacteria is not far to seek. Temperature is the important factor. This is shown in the following table:

Temperature Records of Manhole, Tank, Air and Filter Bed in Degrees, Fahrenheit.

Date, 1899 Day		Hour						
April	29	1.30 p. m.	59,0	63,0	63,5	59,5	60,0	57,0
May	3	1.30 p. m.	57,0	61,0	72,0	60,0	57,5	55,5
„	13	1.15 p. m.	56,5	58,0	60,0	56,25	59,5	62,75
„	24	2.00 p. m.	55,0	56,0	74,0	58,0	56,0	57,25
June	3	1.30 p. m.	58,0	60,0	80,0	67,0	67,5	67,0
„	16	1.00 p. m.	63,0	63,0	94,0	63,0	64,0	66,55
„	24	1.00 p. m.	59,0	61,0	79,0	69,0	70,0	74,0
July	5	1.30 p. m.	61,5	63,0	85,0	65,0	66,5	68,0
„	21	1.30 p. m.	64,0	67,0	107,0	78,0	76,5	75,0
August	10	5.00 p. m.	69,0	70,0	92,0	68,5	68,5	73,0
„	17	11.15 a. m.	68,0	67,0	87,0	68,0	69,0	69,5
„	24	5.30 p. m.	66,0	64,0	66,0	74,0	74,0	74,0
„	29	9.10 a. m.	72,0	71,0	82,0	72,0	73,0	73,5
September	5	8.45 a. m.	78,0	77,5	89,0	75,0	75,5	75,0
„	12	2.45 p. m.	75,5	77,0	83,0	68,5	69,5	70,5
„	19	10.45 a. m.	68,0	68,0	72,0	64,0	64,0	64,0
„	27	2.50 p. m.	78,0	77,0	83,0	60,0	61,5	62,0

Date, 1899. Day		Hour						
October	3	2.20 p. m.	71,0	70,0	73,0	60,5	60,5	62,0
"	10	2.30 p. m.	56,5	56,0	54,5	60,5	60,5	59,5
"	17	8.40 a. m.	47,0	48,0	48,0	56,0	60,0	61,0
"	24	10.10 a. m.	76,0	75,0	82,0	64,5	64,5	63,5
"	31	2.30 p. m.	72,0	71,0	73,0	53,0	53,5	53,0
November	7	2.20 p. m.	54,0	55,0	56,0	52,0	50,0	47,0
"	14	2.10 p. m.	47,0	49,0	46,0	49,0	50,0	50,0
"	21	10.10 a. m.	56,0	56,0	54,0	51,0	50,0	48,5
December	18	1.30 p. m.	53,0	48,0	31,5	—	35,5	38,5

There is very little difference in the number of bacteria per cubic centimeter in manhole and tank. The greater number of organisms in the manhole is no doubt due to the solid particles contained therein, which are largely removed before it enters the tank. On the other hand the tank contains a large amount of food for bacteria and as some time elapses before the tank is dischareged it is readily seen that there would be a large number of bacteria.

The monthly averages of bacteria in effluent of filter bed for the year 1899 is shown in the following table:

Month		Number of bacteria
January	15 days	9 867
February	3 "	3 450
April	1 day	11 075
May	27 days	8 965
June	27 "	4 539
July	31 "	2 538
August	31 "	2 736
September	30 "	3 693
October	29 "	4 203
November	26 "	2 925
December	27 "	2 335
Average for eleven months		5 127

This is a remarkably good showing, considering that owing to inundations in June by heavy rains and the frozen condition of the beds from February to May part of the results are abnormally high. These results should be compared with those of Filter No. 6 at the Lawrence Experiment Station and described in the reports for 1897 and 1898 of the Massachusetts State Board of Health.

Referate.

Bokorny, Th., Schwankungen des Albumingehaltes der Hefe. (Wettendorfer's Zeitschr. f. Spiritus-Industrie. 1900. 1. März.)

Die Preßhefe enthält wasserlöslichen, koagulierbaren Eiweißstoff, der aus bei 30° getrockneter Hefe nach dem Zerreiben derselben extrahiert werden kann. Derselbe ist in der Preßhefe in nicht unbeträchtlicher Menge enthalten. Verf. fand einmal 3,5 Proz., ein anderes Mal 5,9 Proz. der Trockensubstanz an Albumin vor.

Um zu sehen, wie sich dieser Albumingehalt stellt, wenn die Hefe unter mehr oder weniger günstige Vegetationsbedingungen gebracht wird, wurden mehrere Nährlösungen hergerichtet, welche 10 Proz. Rohrzucker und 0,5 Proz. Monokaliumphosphat, ferner 0,2 Proz. Magnesiumsulfat, Spur Chlorkalcium enthielten; eine Stickstoffquelle wurde in einem Falle gar nicht, in Versuch II in Form von 1-proz. weinsaurem Ammoniak, in Versuch III in Gestalt von 1-proz. salpetersaurem Ammon zugesetzt; bei einem vierten Versuch wurde der Preßhefe nichts als Brunnenwasser dargeboten. Die angewandte Hefe stammte von ein und derselben Portion Preßhefe. Die Versuche wurden bei 25^0 aufgestellt.

Nach 3tägiger Versuchsdauer wurde auf Albumin geprüft, indem die einzelnen Hefekulturen getrocknet zerrieben, mit Wasser bei gewöhnlicher Temperatur extrahiert wurden; das Eiweiß wurde durch Erhitzen der Lösungen unter Zusatz von Spur Essigsäure zur Ausscheidung zu bringen versucht. In der ursprünglichen Preßhefe war der Albumingehalt mit 5,9 Proz. bestimmt worden.

Es trat bei sämtlichen Versuchen ein Verschwinden oder doch wenigstens eine starke Abnahme der Albuminmenge in der Hefe ein; die mit weinsaurem Ammoniak als Stickstoffquelle angesetzte Hefe enthielt noch erheblich Albumin, aber weniger wie ursprünglich, bei den übrigen Versuchen war letzteres ganz geschwunden. Da auch mit Brunnenwasser ein rascher Verbrauch des Albumins eingeleitet wird, scheint schon das bloße Wässern der Preßhefe zu genügen; es findet damit Zellvermehrung statt und somit Verbrauch der Reservestoffe. Ein solcher ist wohl das Albumin der Hefe, wie auch das Pepton derselben. Das Albumin ist auf eine Stufe zu stellen mit dem Glykogen der Hefe und der Stärke der grünen Pflanzen oder dem Eiweißvorrat der Samen; alle diese Stoffe werden verbraucht, sobald ein lebhaftes Wachstum stattfindet. Autorreferat.

Benedix, E., Ueber die Gärung schwer vergärbarer Zuckerarten. (Zeitschr. f. diätet. u. physik. Therapie. Bd. III. Heft 7. 3 p.)

Angeregt durch die Beobachtung Burchart's und Blumenthal's, daß eine bakterienhaltige Traubenzuckerlösung durch Zusatz von Pankreaspulver in stürmische Gärung geriet, untersuchte Verf. die Vergärbarkeit verschiedener Zuckerarten durch Bakterien unter Zusatz von Organtabletten und Organpulvern verschiedener Herkunft.

Eine Versuchsreihe mit einem dem Hueppe'schen Milchsäurebacillus ähnlichen — vielleicht mit ihm identischen — Organismus ergab, daß eine 5-proz. Milchzuckerlösung bei Zusatz von 2 Proz. Pankreaspulver in intensive Gärung kam. Ein $1^1/_2$ Proz. Milchzucker enthaltender Harn war zunächst nicht gärungsfähig, wurde es aber ebenfalls nach Zusatz von Pankreaspulver, ebenso verhielt sich Milch. Neben dem Pankreaspulver wurden Milz-, Ovarium-, Darm- und Leberpulver auf ihre diesbezügliche Wirksamkeit untersucht und gelang es, mit den 3 ersteren Präparaten Gärung zu erregen. Wie hiernach zu erwarten war, gelang es ebenfalls mit Albumosepepton,

dagegen fielen die Versuche mit verschiedenen künstlichen Eiweißpräparaten negativ aus.

Andere bisher nicht vergorene Zuckerarten verhielten sich unter denselben Bedingungen verschieden; Xylose wurde leicht und intensiv vergoren, etwas weniger Rhamnose, noch weniger Arabinose, gar nicht Rohrzucker.

Auch mit geringem Faeceszusatz gelang eine Vergärung von Milchzucker, Xylose, Rhamnose, Galaktose und Lävulose unter Anwesenheit von Pepton; Staphylokokken und Bact. coli, welche aus den Faeces gezüchtet waren, zeigten beide dieselbe Eigenschaft, Cholera- und Typhusorganismen ergaben jedoch ein negatives Resultat.

Unter den Gärungsprodukten fand sich in allen Fällen Alkohol, flüchtige Fettsäuren und Milchsäure. Die gebildeten Gase bestanden zu 2 Dritteln aus Kohlensäure, der leicht brennbare Rest ist wahrscheinlich Wasserstoff.

Außer der Bedeutung, welche diese Arbeit für die Gärungsphysiologie hat, giebt dieselbe auch neue Anhaltspunkte für die Differentialdiagnose der Bakterien. Besonders bietet sie ein weiteres Hilfsmittel zur Unterscheidung von Bact. coli und typhi, da ersteres imstande ist, mit Pepton versetzte Milch zur Gärung zu bringen, letzteres nicht. Appel (Charlottenburg).

Demoussy, Oxydation des ammoniaques composées par les ferments du sol. (Ann. agron. T. XXV. 1899. p. 232.)

Von den humösen Bestandteilen des Bodens geht der Stickstoff nur äußerst langsam in anorganische Form (Ammoniak, Nitrit und Nitrat) über. Um der Frage näher zu treten, warum der Humusstickstoff von den Mikroorganismen so schwierig angegriffen wird, hat der Verf. die Nitrifikation einiger bekannten organischen Verbindungen untersucht, und zwar verschiedener Amine, indem er eine nahe Verwandtschaft zwischen diesen und den Humusstoffen annimmt. Er findet eine gewisse Beziehung zwischen der Nitrifikation und dem Aufbau der Molekeln; je weniger kompliziert diese sind, desto leichter werden sie nitrifiziert. Danach ordnen sich die untersuchten Verbindungen in folgende Reihe: Monomethylamin, Trimethylamin, Anilin, Pyridin und Chinolin. Da jedoch die Giftigkeit dieser Stoffe, wie der Verf. selbst anführt, auch in derselben Reihenfolge steigt, sind die Schlußfolgerungen des Verf.'s vielleicht etwas zweifelhaft, daß die Schwierigkeit, womit die Humusstoffe nitrifiziert werden, von einer chemischen Verwandtschaft mit den Aminen herrührt. Von den untersuchten Aminen wird keines direkt nitrifiziert; aus allen wird erst Ammoniak gebildet und dieses nachher weiter in Nitrit und Nitrat verwandelt.

Da der Experimentator als Impfmaterial keine Reinkulturen, sondern Erde gebraucht hat, ist es unverständlich, warum er mit größter Sorgfalt die verschiedenen Nährlösungen sowie die zugesetzten Nährsalze im Autoklaven sterilisiert hat.

Hj. Jensen (Karlsruhe).

Dawson, M., „Nitragin" and the nodules of leguminous plants. (Philosoph. Transact. of the Royal Soc. of London. Ser. 13. Vol. CXCII. p. 1—28.)

Das von Nobbe und Hiltner eingeführte „Nitragin" besteht aus den Mikroorganismen, die bei der Bildung der Leguminosenknötchen beteiligt sind. Direkte Infektion durch Benetzung der Wurzeln mit nitraginhaltigem Wasser ergab im allgemeinen positive Resultate: Die Bakterien dringen durch die Wurzelhaare ein. Auch in sehr jungen Stadien sind die Wurzeln bereits für Infektionen zugänglich.

Daß die Bakterien erst den Boden passieren, ist für die Infektion belanglos.

Auch nach einem Jahre ist die Infektionskraft der Bakterien noch nicht erloschen. Küster (Halle a. S.)

Arthur, J. C., Cultures of Uredineae in 1899. [Mitgeteilt im Columbus Meeting der American Asociation for the Advancement of science.] (Nach Science. N. S. Vol. X. 1899. No. 251.)

J. C. Arthur berichtet hier über die Kulturversuche mit 11 Uredineen, deren Resultate es wohl verdienen, in weiteren Kreisen bekannt zu werden. Er machte erfolgreiche Impfungen mit autöcischen und namentlich auch mit heteröcischen Uredineen. Er wies so überzeugend den Zusammenhang folgender Fruchtformen nach.

Autöcische Uredineen.

Puccinia Convolvuli Cast. auf Convolvulus sepium mit Aecidium Calystegiae auf derselben durch Aussaat der Teleutosporen auf Convolvulus sepium.

Uromyces Euphorbiae (Schwein.) C. & P. auf Euphorbia nutans Lag. mit Aecidium Euphorbiae Am. Auct. auf derselben durch Aussaat der Teleutosporen. Dies steht in Uebereinstimmung mit dem Ergebnisse des Ref., der Uromyces Euphorbiae (Schwein.) C. et P., auf Euphorbia Preslii Sach. aus den Aecidien auf derselben Nährpflanze erzogen hat und dadurch im Gegensatz zu Burrill und de Toni die Zusammengehörigkeit des Aecidium auf Euphorbia Preslii mit dem Uromyces Euphorbiae (Schwein.) B. & C. festgestellt hat (s. Berichte der deutschen botanischen Gesellschaft. Bd. XI. 1893. p. 43—58).

Phragmidium speciosum Fr. auf Rosa humilis Marsh. mit Caeoma miniata Am. Auct. auf Rosa sp. durch Aussaat der Teleutosporen.

Triphragmium Ulmariae auf Ulmaria rubra Hill mit Caeoma Ulmariae auf derselben durch Aussaat der Caeoma-Sporen und Uredosporen.

Heteröcische Uredineen.

Puccinia Phragmitis (Schum.) Körn. auf Phragmitis communis Trin. mit Aecidium rubellum Pers. auf Rumex crispus L. und Rum. obtusifolius L. durch Aussaat der Teleutosporen.

Puccinia Americana Lagh. auf Andropogon scoparius

Mx. mit Aecidium Pentstemonis Schw. auf Pentstemon pubescens Sol. durch Aussaat der Aecidiensporen und Teleutosporen.

Puccinia Windsoriae Schw. auf Triodia cuprea Jacq. mit Aecidium Pteleae B. & C. auf Pteleae trifoliata L. durch Aussaat der Aecidiensporen.

Puccinia Vilfae A. & H. auf Sporobolus asper (Mx.) Kunth mit Aecidium verbenicola K. & S. durch Aussaat der Aecidiensporen.

Puccinia peridermiospora (E. & T.) Arth. auf Spartina cynosuroïdes (L.) Willd. mit Aecidium Fraxini Schw. auf Fraxinus viridis Mx. durch Aussaat der Teleutosporen.

Puccinia Caricis (Schum.) Reb. auf Carex stricta Lam. mit Aecidium Urticae Schum. auf Urtica gracilis Ait. durch Aussaat der Aecidiensporen.

Puccinia angustata Pk. auf Scirpus atrovirens Muhl mit Aecidium Lycopi Ger. auf Lycopus sinuatus Ell. durch Aussaat der Aecidiensporen. P. Magnus (Berlin).

von Tubeuf, Ueberwinterung und Verbreitung des Gitterrostes der Birnbäume. (Deutsche landwirtschaftl. Presse. 1900. 7. März.)

Der Umstand, daß die Aecidien der Roestelia nicht selten auch an den jungen Zweigen des Birnbaumes auftreten, hat die Vermutung aufkommen lassen, daß der Pilz ohne Zwischenwirt im Birnbaume überwintern könne. Dies ist weder bewiesen noch wahrscheinlich. Die damit behafteten Teile sind immer nur einjährige Zweige, welche infolge dieses Befalles bald absterben. Der Gitterrost verschwindet nur mit der Vernichtung seines Zwischenwirtes, des Sadebaumes. Die Pilzsporen können von letzterem auf mehrere Hundert Meter durch die Luft verweht werden, unter Umständen, d. h. wenn die Windrichtung entsprechend ist, noch weiter. Frank (Berlin).

Güntz, M., Beobachtungen über den Wurzeltöter von Klee, Rhizoctonia violacea Tul. (Fühling's Landw. Ztg. Jahrg. XLVIII. 1899. Heft 19.)

Der Rhizoctonia-Pilz veranlaßt durch Wucherung an den Wurzeln von Rotklee und Luzerne diese Pflanzen zum frühzeitigen Absterben.

Verf. beobachtete nun die Uebertragung des Rhizoctonia-Pilzes auch auf Kartoffeln, Topinambur und Buschbohnen.

Ein umgepflügtes Luzernefeld wurde zu Versuchszwecken mit verschiedenen Früchten, wie Erbsen, Bohnen, Kartoffeln und Topinamburs bestellt. Es zeigte sich nun, daß einige Kartoffelpflanzen frühzeitig abstarben, während die anderen Saaten gesund blieben. Die nähere Untersuchung der betreffenden Kartoffelpflanzen ergab die Anwesenheit des Rhizoctonia-Pilzes. Auch an den Hauptwurzeln der Topinamburpflanzen wurde fraglicher Pilz angetroffen, doch sollen bei diesen Pflanzen erkrankte Knollen nicht zu finden gewesen sein.

Auch an einigen frühzeitig abgestorbenen Buschbohnen fand Verf. deren Wurzeln mit dem Rhizoctonia-Pilz behaftet.

Um ein Weitergreifen dieser Pflanzenkrankheit zu verhindern, empfiehlt Verf. Umgraben der verseuchten Stellen, Verbrennen der kranken Pflanzen und Einsaat von Esparsette, welche diesem Pilze Widerstand leisten soll. Reinmann (Hildesheim).

Toumey, J. W., An inquiry into the cause and nature of crown gall. (Arizona Sta. Bull. 33. p. 64. pl. 1. fig. 31.)

Seit 1896 hat Verf. Versuche über die Natur und Ursache der "crown gall" ausgeführt. Nach einigen Autoren soll crown gall identisch mit dem Wurzelkropf sein. Verf. hat crown gall bei folgenden Pflanzensorten gefunden: Pfirsich, Aprikose, Mandel, Pflaume, Apfel, Birn, englische Walnuß und Weinstock. Anderswo in den Vereinigten Staaten ist dieselbe oder eine ähnliche crown gall bei der Himbeere, Brombeere, dem Kirschbaum, der Pappel und Kastanie beobachtet.

Bei 57 Mandelbäumen hat Verf. die Gallen abgeschnitten, die frische Wunde mit Kupfervitriol-Kalkbrühe gespritzt und nachher mit Teer oder Farbstoff angestrichen. Die Resultate dieser Experimente waren sehr unbefriedigende. Sämlinge, welche unter den mit dieser Krankheit infizierten Mandelbäumen standen, zeigten auch crown gall an den Wurzeln. Verf. hat 200 Mandelsamen in vier Beeten gepflanzt. Der Boden im ersten Beet ist nicht behandelt worden. Die anderen Beete sind mit zerstückelter crown gall infiziert worden, wobei das dritte Beet mit Schwefel und das vierte mit Kupfervitriol behandelt worden ist. In Beet I ist kein Sämling infiziert worden. In Beet II zeigten 16 Sämlinge, in Beet III 17 und in Beet IV 1 crown gall an den Wurzeln. Es ist dem Verf. geglückt, gesunde Sämlinge durch direkte Uebertragung von kleinen Stückchen crown gall zu infizieren.

Verf. hat eine nähere Untersuchung des spezifischen Erregers der crown gall durchgeführt. Seines Erachtens gehört der crown gall-Organismus zu den Myxomyceten und zu der Unterordnung der Myxogastren. Der Organismus scheint eine neue Gattung und Art zu sein und wird vom Verf. unter dem Namen Dendrophagus globosus beschrieben. Die Fruchtträger sitzen auf der Gallenfläche und enthalten ein Capillitum wie bei den Trichiaceen.

E. V. Wilcox (Washington, Ill.).

Solla, In Italien im Jahre 1898 aufgetretene Krankheiten. (Zeitschr. f. Pflanzenkrankh. 1899. p. 297.)

1898 traten in Italien folgende Pflanzenkrankheiten auf:

Am Weinstocke trat Plasmopara viticola außerordentlich heftig in ganz Italien auf. Das feuchte, trübe Wetter begünstigte ihr Auftreten ungemein und machte die Bekämpfung durch Bespritzung unmöglich, da die Spritzmittel durch den Regen sofort abgewaschen wurden. Der Pilz beschränkte sich nicht auf die Blätter, sondern ging auch auf junge Früchte und Traubenspindeln über.

Mehr lokale Schädigungen verursachten Gloeosporium ampelophagum, Oidium Tuckeri und Phytoptus Vitis. Auch die Traubenmotte hat schädigend gewirkt.

Auf dem Getreide trat die Uredoform des Getreiderostes auf. Namentlich zeigten sich Roggen und Hafer davon heimgesucht. Den Weizen schädigten namentlich Ophiobolus graminis, Septoria graminum und S. Tritici.

An den Oelbäumen zeigte sich Antennaria oleophila. Clasterosporium amygdalearum verursachte bei Kirschbäumen einen starken Laubabfall. Helminthosporium carophilum tötete viele Pfirsichzweige ab. Heterodera radicicola verursachte einen empfindlichen Ausfall der Haselnußernte.

Phytophthora infestans schädigte die Kartoffeln. An kultivierten Gartennelken traten Uromyces caryophyllinus und Ascochyta Dianthi auf. In den Aufforstungen der Seestrandkiefer bei Savone verursachten die Pykniden von Coleosporium Senecionis beträchtlichen Schaden, da fast alle Nadeln von ihnen ergriffen wurden. Der Lorbeerbaum wurde durch Cercospora Molleriana und Coryneum microstictum β laurinum geschädigt.

Das Welken des Maulbeerbaumes wurde auch wieder beobachtet, ohne daß die Ursache erkannt werden konnte. Lindau (Berlin).

Entwickelungshemmung und Vernichtung der Bakterien etc.

Senderens, J. B., Expériences sur le traitement du Black-Rot en 1899 dans la Haute-Garonne et dans le Bas-Armagnac. (La Vigne française. 1900. No. 1. p. 7 f.)

Verf. empfiehlt zur Bekämpfung der Black-Rot-Krankheit der Reben eine Brühe von folgender Zusammensetzung: Kupfersulfat 2 kg, Natriumkarbonat 800 g, Wasser 100 l. Dieses Mittel soll in der Zeit vom Mai bis August 4—5mal zur Anwendung gelangen. Die 5. Besprengung der Reben soll hauptsächlich zum Zwecke der Bekämpfung der Peronospora erfolgen. Moritz (Berlin).

Mengarini, Flavio, Azione anticrittogamica dei vapori di formaldeide. (Bollett. di Notizie agrarie. 1899. No. 32. p. 1319.)

Um zu ermitteln, ob die bei gewöhnlicher Temperatur in einem geschlossenen Gefäße entwickelten Dämpfe von Formaldehyd die Schimmelbildung auf frischen Früchten zu verhindern imstande sind, stellte Verf. eine Reihe von Versuchen an, welche ihn zu dem Schlusse führten, daß die Wirkung der bei gewöhnlicher Temperatur entwickelten Formaldehyddämpfe nur eine schwache ist. Die Wirkung war dagegen eine viel vollständigere, wenn man die durch Kochen einer Formaldehydlösung erhaltenen Dämpfe auf die Früchte einwirken ließ. Moritz (Berlin).

Mengarini, Flavio, Sull' azione anticrittogamica dell'anidride carbonica libera. (Bollettino di Notizie agrarie. 1899. No. 32. p. 1313.)

Versuche, welche Verf. mit süßen Fruchtkonserven anstellte, welche infolge ungenügender Konzentration zum Schimmeln neigten, ergaben, daß die Einführung von Kohlensäureanhydrid das Schimmeln solcher Konserven aufhalten kann. Moritz (Berlin).

Mengarini, Flavio, Azione anticrittogamica ed insetticida del monossido di carbonio sulle cocciniglie degli aquumi. (Bollettino di Notizie agrarie. 1899. No. 32. p. 1317.)

Verf. schließt aus seinen Versuchen, daß die Wirkung des Kohlenoxyds auf die Larven und Eier von Schildläusen (Mytilaspi fulva Targ. und Ceroplastes Rusci Linn.) nicht genügt, um dieselben zu zerstören. Dagegen zeigte dieses Gas eine bedeutende, die Entwickelung hemmende Wirkung auf die gewöhnlichen Schimmelpilze (Penicillium, Botrytis), welche die Früchte zu befallen pflegen. Moritz (Berlin).

Gutzeit, E., Bekämpfung der Kartoffelkrankheit und Steigerung des Knollenertrages durch Anwendung von Kupferkalkbrühe. (Fühling's landwirtsch. Ztg. 1899. Heft 4 u. 5.)

Die Besprengung des Kartoffelkrautes mit einer Aufschwemmung von frisch gefälltem Kupferoxydhydrat (Kupferkalkbrühe, Bordelaiser Brühe) ist ein allgemein bekanntes und wirksames Mittel gegen die Kartoffelkrankheit, welche durch Phytophthora infestans hervorgerufen wird.

Die feuchte Witterung von 1898, welche die Ausbreitung dieser Krankheit sehr begünstigte, veranlaßte den Verf., folgende Versuche mitzuteilen:

Von 3 verschiedenen Sorten Kartoffeln wurden am 12. Mai je 70 Stück ausgelegt.

Aus allen 210 Knollen entwickelten sich gesunde Pflanzen mit kräftigem Laube.

Am 7. Juli, als das Auftreten der Phytophthora noch nirgends im Versuchsgarten konstatiert werden konnte, wurden von jeder Sorte je 35 Pflanzen mit 2-proz. Kupferkalkbrühe besprengt.

Infolge der erheblichen Niederschläge im Juli trat die Krankheit überall auf, die besprengten Pflanzen hatten aber merklich weniger gelitten.

Als später im August heiße Tage folgten, starb das nicht besprengte Laub völlig ab, während die anderen ihr üppiges Grün behielten.

Die Ernte im September ergab ganz bedeutende Mehrerträge der besprengten Pflanzen und zwar im Verhältnis 100 : 161 im Mittel. Auch im Stärkegehalte zeigten sich bedeutende Unterschiede, das Verhältnis war hier wie 100 : 185 im Mittel.

Die besprengten Pflanzen lieferten außerdem bedeutend weniger kranke Knollen als die nicht besprengten.

Verf. schließt daraus:

Gekupferte, gesunde — von dem Pilze der Kartoffelkrankheit völlig freie — Blätter transpirierten mehr, erzeugten größere Mengen

Chlorophyll, assimilierten infolgedessen mehr und speicherten mehr Stärke auf, als unbehandelte Blätter in deselben Zeit.

Reinmann (Hildesheim).

Corrigendum.

In No. 13 ds. Centralbl. p. 432, Zeile 23 von oben lies „Oxalsäure" statt „Kalksäure", p. 436, Zeile 15 von oben „acrogen" statt „aërogen" und Zeile 12 derselben Seite von unten „Diese Krankheit" statt „Die Krankheit".

Neue Litteratur,

zusammengestellt von

San.-Rat Dr. Arthur Würzburg,

Bibliothekar im Kaiserl. Gesundheitsamte in Berlin.

Untersuchungsmethoden, Instrumente etc.

Laveran, Sur une méthode de coloration des noyaux applicable en particulier à l'étude des hématozoaires endoglobulaires. (Compt. rend. de la soc. de biol. 1900. No. 21. p. 549—551.)

Systematik, Morphologie und Biologie.

Abelous, J. E. et **Ribaut, H.**, Sur l'existence d'un ferment soluble opérant la synthèse de l'acide hippurique aux dépens du glycocolle et de l'acide benzoique. (Compt. rend. de la soc. de biol. 1900. No. 21. p. 543—545.)

Artault de Vevey, Existe-t-il un ferment lipogène? (Compt. rend. de la soc. de biol. 1900. No. 21. p. 551—552.)

Bréaudat, L., Nouvelles recherches sur les fonctions diastasiques des plantes indigofères. (Annal. d'hyg. et de méd. colon. 1900. No. 2. p. 203—205.)

Bubák, F., Mykologische Beiträge aus Bosnien und Bulgarien. (Aus: Sitzungsber. d. k. böhm. Gesellsch. d. Wiss.) gr. 8°. 6 p. m. 1 Taf. Prag (Fr. Rivnáč) 1900. 0,36 M.

Chanoz, M. et **Doyon, M.**, Action des basses températures sur la coagulabilité du sang et du lait et le pouvoir coagulant de la présure. (Lyon méd. 1900. No. 23. p. 192—193.)

Kunstler, J., Remarques sur certains points de l'histoire de la vie des organismes inférieurs. (Compt. rend. de l'acad. d. scienc. T. CXXX. 1900. No. 21. p. 1416—1418.)

Mazé, P., Recherches sur le rôle de l'oxygène dans la germination. (Annal. de l'Instit. Pasteur. 1900. No. 5. p. 350—368.)

Rick, J., Eine neue Sclerotinia-Art. (Oesterr. botan. Ztschr. 1900. No. 4. p. 121—122.)

Sarthou, J., Du rôle que paraît jouer le fer dans la schinoxydase. (Journ. de pharm. et de chimie. 1900. No. 12. p. 583—589.)

Steudel, H., Ueber Oxydationsfermente. (Dtsche med. Wchschr. 1900. No. 23. p. 372—375.)

Volz, W., Beitrag zur Kenntnis einiger Vogelcestoden. (Arch. f. Naturgeschichte. Bd. I. 1900. Heft 2. p. 115—174.)

Will, H., Gerbstoffreaktionen an Hefezellen und deren Beimengungen aus gehopfter Würze. (Ztschr. f. d. ges. Brauwesen. 1900. No. 23, 24. p. 325—329, 341—346.)

Beziehungen der Bakterien und Parasiten zur unbelebten Natur.

Luft und Wasser.

Gorini, C., Sull' esame batteriologico dell' acqua del sottosuolo. (Giorn. d. r. soc. ital. d' igiene. 1900. No. 5. p. 193—197.)

Gruber, M., Ueber den Handel mit Eis. (Oesterr. Sanitätswesen. 1900. No. 23. p. 265—268.)

Nahrungs- und Genußmittel, Gebrauchsgegenstände.

Fleisch.

Ostertag, Die Einführung der Fleischbeschau im Deutschen Reiche. (Ztschr. f. Fleisch- u. Milchhygiene. 1900. Heft 9. p. 161—163.)

Milch, Molkerei.

Bizzozero, G., Un nuovo metodo per la conservazione del latte. (Riv. d' igiene e san. pubbl. 1900. No. 11. p. 377—381.)

Vieth, Pasteurisieren der Milch und Käserei. (Hannov. land- u. forstwirtschaftl. Ztg. 1900. No. 24. p. 430—433.)

Bier, Brauerei.

Brocq, Emploi de la levure de bière. (Gaz. méd. belge. 1899. p. 69.)

Wohnungen, Abfallstoffe etc.

Heuser, C., Die Reinigung der städtischen Schmutzwässer von Sheffield und die beabsichtigte Einführung des bakteriologischen Verfahrens. (Techn. Gemeindebl. 1900. No. 5. p. 69—71.)

Wesenberg, G., Die Wohnungsdesinfektion nach ansteckenden Krankheiten. (Prometheus. 1900. Heft 9. p. 518—522.)

Beziehungen der Bakterien und Parasiten zu Pflanzen.

Krankheitserregende Bakterien und Parasiten.

Barlow, E., Notes on insect-pests from the entomological section, Indian museum. (Indian mus. notes. Vol. IV. 1899. No. 4. p. 188—221.)

Bouillot, C., Notes sur le puceron lanigère. (Semaine hortic. 1900. p. 70—71.)

Bourgne, A., La nielle du blé. (Journ. de la soc. agricole du Brabant-Hainaut. 1899. p. 272—273.)

Delacroix, G., La „graisse“, maladie bactérienne des haricots. 8⁰. 10 p. avec fig. Nancy (Impr. Berger-Levrault & Co.) 1900.

Johnson, W. G., Miscellaneous entomological notes. (Proceed. of the 11. annual meet. of the assoc. of economic entomol. U. S. Departm. of Agricult., Divis. of entomol. N. S. Bullet. No. 20. Washington 1899. p. 62—68.)

Kornauth, K., Ueber die Bekämpfung der Feld-, Wühl- und Hausmäuse mittels des Loeffler'schen Mäusetyphusbacillus. (Ztschr. f. d. landwirtschaftl. Versuchswesen in Oesterreich. 1900. Heft 2. p. 123—132.)

Leonardi, G., Insetti nocivi ai nostri orti, frutteti, campi e boschi, all' uomo ed agli animali domestici. Vol. III. 8⁰. Napoli (E. Marghieri) 1900. 12 £.

Marchal, E., Rapport sur les maladies cryptogamiques étudiées au laboratoire de botanique de l'Institut agricole de l'Etat. Année 1899. (Bullet. de l'agricult., Bruxelles 1900. T. XVI. livr. 1. p. 9—21.)

Mills, J., Dearness, J., Bunting, W. H., Report on the commission of enquiry concerning the operation of the San Jose scale act, 1899. gr. 8⁰. 8 p. Toronto 1899.

Parfondry, J., La pourriture du coeur de la betterave. (Journ. de la soc. roy. agricult. de l'est de la Belgique. 1899. p. 226.)

Perbal, F., Destruction de la prêle et du pas-d'âne. (Union. 1899. p. 618—619.)

Report, annual, of the superintendent of spraying for Ontario 1899. gr. 8⁰. 16 p. Toronto 1900.

Schlichting, Zur Bekämpfung des Apfelmehltaues. (Prakt. Ratgeber im Obst- u. Gartenbau. 1900. No. 16. p. 153—154.)

Schribaux, E., Comment protéger les blés contre les ravages des corbeaux. (Mentor agric. 1899. p. 391—392.)

— —, Destruction de la cuscute. (Journ. de la soc. agric. du Brabant-Hainaut. 1899. p. 772—773.)

Staes, G., Een onderzoek over den stink- of steenbrand der tarwe in Belgie in 1898. (Tijdschr. over plantenziekten. 1899. aflev. 5/6. p. 170—176.)

Stewart, F. C., Leaf scorch of the sugar beet, cherry, cauliflower and maple. (New York agricult. experim. stat., Geneva, N. Y. 1899. Bullet. No. 162. p. 165—178.)

— —, Notes on various plant diseases. I. A bacterial rot of onions. II. Powdery mildew on field-grown cucumbers. III. Dodder on cucumbers under glass. IV. Is the baldwin fruit spot caused by fungi or bacteria? V. A Fusarium leaf-spot of carnations. VI. Chaetomium contortum on barley seedlings. (Ibid. Bullet. No. 164. p. 207—221.)

Stoklasa, Influence des parasites de la graine sur le développement de la betterave. (Sucrerie belge. 1899. p. 105—108.)

Téran, V., Schadelijke insecten. (Tijdschr. over boomteelk. 1899. p. 340.)

d'Utra, G., Tratamento do mildio e do oidio das videiras. (Bolet. do Instit. agronom. do Estado de São Paulo em Campinas. 1899. No. 9/10. p. 588—598.)

Vilcoq, A., Destruction des crucifères nuisibles. (Journ. de la soc. agricole du Brabant-Hainaut. 1899. p. 718—719.)

Zehntner, L., De gallen der Djamboebladeren. (De indische Natuur. 1900. Febr. p. 3—11.)

Entwickelungshemmung und Vernichtung der Bakterien.

Bombe, A., Nur Kupfervitriol oder auch Kalk? (Gartenflora. 1900. Heft 6. p. 153—155.)

Castel-Delétrez, G., Destruction des chardons et des sanves par le sulfate d'ammoniaque. (Journ. de la soc. roy. agric. de l'est de la Belgique. 1899. p. 199.)

Inhalt.

Original-Mitteilungen.

Referate.

Entwickelungshemmung und Vernichtung der Bakterien etc.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.

Centralblatt

für

Bakteriologie, Parasitenkunde u. Infektionskrankheiten.

Zweite Abteilung:

Allgemeine, landwirtschaftlich-technologische Bakteriologie, Gärungsphysiologie, Pflanzenpathologie und Pflanzenschutz.

In Verbindung mit

Prof. Dr. **Adametz** in Wien, Prof. Dr. **J. Behrens** in Karlsruhe i. B., Prof. Dr. **M. W. Beijerinck** in Delft, Geh. Regierungsrat Prof. Dr. **A. B. Frank** in Berlin, Dr. v. **Freudenreich** in Bern, Privatdocent Dr. **Lindau** in Berlin, Prof. Dr. **Lindner** in Berlin, Dr. **Morris**, Chef des Hansen-Laboratory, Jenner-Institute of Preventive Medicine in London, Prof. Dr. **Müller-Thurgau** in Wädensweil, Dr. **Erwin F. Smith** in Washington, D. C., U. S. A., Prof. Dr. **Stutzer** in Breslau, Prof. Dr. **Wehmer** in Hannover, Prof. Dr. **Weigmann** in Kiel und Prof. Dr. **Winogradsky** in St. Petersburg

herausgegeben von

Dr. O. Uhlworm in Cassel

und

Prof. Dr. Emil Christian Hansen in Kopenhagen.

Verlag von Gustav Fischer in Jena.

VI. Bd. Jena, den 27. August 1900. **No. 16.**

Jährlich erscheinen 26 Nummern. Preis für den Band (Jahrgang) 20 Mark. Preis für eine einfache Nummer 75 Pfg., für eine Doppelnummer 1 Mark 50 Pfg. Nummern mit Tafeln kosten für jede Tafel 50 Pfg. mehr.

Hierzu als regelmäfsige Beilage die Inhaltsübersichten der I. Abteilung des Centralblattes.

Wünsche wegen Lieferung von besonderen Abdrücken wollen die Herren Mitarbeiter auf die Manuskripte schreiben oder bei Rücksendung der ersten Korrekturabzüge der Verlagsbuchhandlung mitteilen.

Original-Mitteilungen.

The Foul Brood of Bees. Bacillus alvei (Cheshire and W. Cheyne).

By **Francis C. Harrison**, Ontario, Canada.

With 4 figures.

(Conclusion.)

Thus the amount of formic acid recommended by Bertrand for the cure of the disease, is almost identical with the amount found in buckwheat honey. Another fact supports the chemical

analysis. The sting of bees working on buckwheat is for more irritant than when they are working on clover, and the chemical examination of these honeys gives an interesting explanation of the fact, and the experience of practical beekeepers will confirm the above statements.

Formic acid has good antiseptic qualities, and it is certainly a more natural substance to use for the treatment of the disease, as the bees themselves make a certain quantity. It has also given good results when employed as a remedy for foul brood.

Other substances used for treating this disease. Among the other substances that have been used for treating this disease are sulphuric acid, sulfaminol, various modifications of substances already mentioned, the Mc Lean method (80), Smith method, and others; but these have not had the wide application of those mentioned in extenso.

Experiments on the use of drugs for combatting the disease.

I have already mentioned that in one of my experiments I endeavoured to find out if the virulence of the germ was attenuated by prolonged culture in artificial media, with the result that considerable attenuation occured after a large number of transfers. In the following experiments I have endeavoured to overcome any objections which might be made as to the virulence of my cultures, by isolating B. alvei from a badly diseased hive, and then growing at once sufficient spores for the purposes of the experiment. Thus, but three transfers from a diseased larva were made, and all spores used in the following experiments were obtained in this manner.

Two small hives, each containing strong healthy swarms were selected, and placed side by side.

Hive A was given spores of B. alvei in syrup containing one third of a gramme of Naphtol β to a litre of syrup.

Hive B was given spores of B. alvei in syrup containing from 1,6 to 1,8 ccm formic acid to a litre of syrup.

The spores given were scraped from the surface of an agar slope culture, put into 10 ccm of sterile water, and well shaken in order to obtain a good suspension of spores. The water and spores were poured into medicated syrup and the mixture thoroughly stirred. It was then given to the bees, and was readily accepted. This procedure was continued 4 days a week for three weeks, at the end of this time each hive had the whole of the growth from 12 sloped agar tubes. During the feeding period the combs containing the brood were carefully examined, but none of the usual symptoms of the disease appeared, although I obtained cultures from different parts of the hives and from the digestive tract of the workers. At the end of three weeks the medicated syrup was discontinued for a week and then ordinary syrup containing spores was given. At the end of ten days typical symptoms began to be noticed and after 16 days, the disease was well established. Both hives, as far as I was able to judge were the same, no disease whilst feeding medicated syrup, and infection established after the formic acid and naphtol β

were discontinued. This experiment goes to prove the benefit that may be derived from feeding with syrup a substance which is antiseptic and which hinders the germination of the spores. They also confirm Lortet's opinion that the digestive canal of the nurse bee is alone infected. I have never been able to obtain Cheshires' results, viz., the isolation of the bacillus from the blood of the worker, but in the digestive canal of bees from diseased colonies, the bacillus is frequently present.

From the results of the above experiments, it may be argued that the use of chemicals is beneficial, but I would not state that all other measures (starvation or stamping out) are useless. I do think, however, that some of the drugs used are of no or very little value, but the better ones as formic acid and naphtol β are very useful. In some cases, especially in those in which the disease is very virulent, it might be advisablo to use more drastic measures.

Toxins.

I endeavoured to find out if the feeding of toxin (or rather the filtrate from a 2 weeks old culture of B. alvei in saccharose bouillon) mixed in syrup, would enable the bees to withstand the disease. Small amounts of this filtrate were given in syrup every other day for three weeks. The amount of filtrate fed was gradually increased, but as the amount got larger, the bees refused to accept it, so the mixture had to be poured over the combs. At the end of three weeks, spores of B. alvei, freshly isolated, were fed and symptoms of the disease followed about fourteen days later. It had therefore little or no effect, but further experiments are being tried.

Legislation.

In the United States, six states have laws for the suppression of foul brood among bees. These are New York, Wisconsin, Michigan, Utah, Colorado, and California. In Canada, the Province of Ontario has enacted a foul brood law. In Europe, Mecklenburg, has also a law.

These statutes shew considerable difference, and some of them are so drafted that evasion of the law is easy. The best are probably those of Wisconsin and Ontario, and the principal points of these acts are here given:

1. The appointment of an inspector.
2. The inspection of all apiaries reported as diseased, and if the inspector is satisfied that the disease is present, he shall give full instructions how to treat the cases.
3. The inspector who shall be the sole judge shall make a second visit to all diseased apiaries, and if need be burn all colonies and combs that be may find not cured.
4. Various penalties, fines or in default imprisonment, are imposed for,
   a) selling bees, or giving away diseased colonies or infected appliances;
   b) selling bees after treatment or exposing infected appliances;
   c) obstructing the inspector.

5. Persons who are aware of the disease either in their own apiary or elsewhere, are to notify at once the proper authorities and in default of so doeing, shall on conviction be liable to a fine and costs.
6. The inspector of apiaries, to make an annual report, which statement shall include the number of colonies destroyed by order of the inspector, the localities where found, and the amount paid to him for his services.

References.

1) Aristoteles, Historia animalium. Book IX. Ch. 27.
2) Columella, L. J. M., De re rustica. Book IX. Ch. 13.
3) Plinius, Natural History. Book XI. Ch. 19. A. D. 79.
4) Schirach, Histoire des abeilles. Ch. III. p. 56. La Haye 1771.
5) Cowan, Journal of the Royal Agricultural Society. Vol. VI. Part IV. 1895.
6) Tessier, L'encyclopédie méthodique, abeille. 1765. p. 32.
7) Duchet, Culture des abeilles. p. 315. Vevey 1771.
8) Della Rocca, Traité complet sur les abeilles. T. III. Paris 1790. p. 261.
9) Wildman, Treatise on the management of bees. London 1796.
10) Keys, Ancient bee masters farewell. London 1796.
11) Needham, Rhein, Brussels Memoirs. T. II. 1780.
12) Reaumur, Memoires pour servir à l'histoire naturelle des insects. T. V. p. 1734.
13) Bevan, The honey bee. London 1827.
14) Leuckhart, Bienenzeitung. Eichstädt 1860. p. 232.
15) Mühlfeld Molitor, Bienenzeitung. Eichstädt 1868. p. 95.
16) Preuss, Bienenzeitung. 1868. p. 225.
17) Vogel, Pollmann, Leuckhart, Geilen, Bienenzeitung. 1868. No. 21 u. 22.
18) Mühlfeld, M., Bienenzeitung. 1869. No. 3.
19) Lambrecht, Hallier, Bienzeitung. 1870. No. 2.
20) Cornallia, Bienenzeitung. 1870. No. 5.
21) Fischer, Bienenzeitung. 1871. p. 105—125.
22) Schönfeld, Cohn, Eidam, Bienenzeitung. 1874. p. 201, 261.
23) Cheshire and Cheyne, W., Journal of the Royal Microscopical Society. 1885. p. 581.
24) Dickel, Bienenzeitung. 1888. p. 124.
25) Klamann, Bienenwirtschaftliches Centralblatt. Hannover 1888. No. 18 u. 19.
26) Cheshire, Bees and beekeeping. Vol. II. London 1885. p. 546.
27) Smith, W. G., British Bee Journal. Vol. XIV. London 1886. p. 1225.
28) Mc Kenzie, J. J., Ontario Agricultural College Report. Toronto 1893.
29) Govan, T. A., British Bee Journal. Vol. XXIII. p. 434.
30) Ward, F. F., British Bee Journal. 1887. p. 396.
31) Canestrini, Atti della società Veneto-Trentina di scienze naturali. Padua 1891.
32) Bertrand, Bulletin d'apiculture de la Suisse Romande. 1886. p. 128.
33) Benton, Bulletin d'apiculture. 1886. No. 4
34) Bovil, Nicosia, Cyprus. Personal communication.
35) Feuillebois, Revue internationale d'apiculture. T. XV. p. 58.
36) Bradley, New South Wales Gazette. Sydney 1894. p. 265.
37) "Apis ligusticus". (Journal of agriculture and industry of South Australia. Adelaide 1897. p 341.)
38) Brickwell, British Bee Journal. 1890. p. 486.
39) Eisenberg, Bakteriologische Diagnostik. Hamburg 1891. p. 298.
40) Howard, W. R., Foul Brood. Its natural history and rational treatment. Chicago 1894.
41) Dadant and Hunt, American Bee Journal. Chicago 1891. p. 470.
42) Sternberg, Manual of Bacteriology. New York 1893. p. 478.
43) British Bee Journal. Vol. XIX. 1891. p. 478.
44) Mc Evoy, Foul brood, its cause and cure. Trenton N. J. 1895.
45) Root, A. I., Gleanings in bee culture. Vol. XXIV. 1896. p. 853.
46) Dzierzon, Bienenzeitung. Nördlingen 1860.
47) Cowan, British beekeepers guide book. London. 14th ed.

48) Bulletin d'apiculture. Nyon 1886. p. 121.
49) Quinby, Beekeeping. New York 1885. p. 217.
50) Bertrand, Bulletin d'apiculture. 1882. p. 219.
51) Aspinall, Revue internationale d'apiculture. 1897. p. 9.
52) Butlerow, Bienenzeitung. 1874. p. 176.
53) Cech, Phenol, Thymol und Salicylsäure als Heilmittel der Brutpest der Bienen. 1877.
54) Knight, Philosophical Transactions of the Royal Society. 1807. p. 343.
55) Kirby and Spence, Introduction to entomology. Vol. II. 1828. p. 111.
56) Reports of the Beekeepers Association for the Province of Ontario. Toronto 1890—1898.
57) Report of Convention of American Bacteriologists. (Journal American Public Health Association. Vol. XXIII. 1898.)
58) Root, L. C., Quinby's new beekeeping. New York 1879. p. 218.
59) Bertrand, Conduite du rucher. 8. éd. Nyon 1895.
60) Cowan, British Bee Journal. Vol. XII. p. 128.
61) Ossipow, Travaux de la société économique impériale, St. Pétersbourg 1884.
62) Klempin, L'apicoltore. Milano 1885. p. 302. (Report by Prof. Grassi.)
63) Zehetmayr, British Bee Journal. Vol. XII. p. 60.
64) Cowan, Ibid. p. 129.
65) Jones, D. A., Foul brood, its management and cure. Beeton, Canada 1886.
66) Schreuter, Bienenzeitung. Dez. 1887.
67) Borel, Revue internationale d'apiculture. 1888. p. 156.
68) Cowan, Ibid. 1889. p. 139.
69) Bauverd, Ibid. 1883. p. 247.
70) Auberson, Ibid. 1891. p. 240.
71) British Bee Journal. Vol. XXIII. p. 402.
72) Lortet, Revue internationale d'apiculture. 1890. p. 50.
73) Cowan, Ibid. 1891. p. 165.
74) Dennler, Elsaß-Lothringischer Bienenzüchter. 1885. Nov.
75) Sproule, Beekeepers Record. 1889. June. "Gleanings". 1890. p. 596.
76) Mühlenhoff, Bienenzeitung. Eichstädt 1884. No. 6; Pharmaceutical Journal Transactions. 1884. p. 343.
77) Erlenmeyer, Séance de l'académie des sciences de Munich. 6 févr. 1895.
78) Planta, Schweizerische Bienenzeitung. 1893. p. 116.
79) —, Ibid. 1884. p. 89.
80) Mc Lean, Department of Agriculture Report. Washington 1886. p. 584.

Ueber das Auftreten und Verschwinden des Glykogens in der Hefezelle.

[Arbeiten der pflanzenphysiologischen Versuchsstation zu Geisenheim am Rhein.]

Von **Richard Meissner**-Dessau.

Den Ausgangspunkt der im Folgenden mitzuteilenden Untersuchung bildet eine Beobachtung Wortmann's[1]), durch welche konstatiert wurde, daß bei der Vergärung von Most durch einige zu der Untersuchung herangezogene Heferassen eine größere Menge von Kohlensäure gebildet wurde, als nach der Theorie hätte gebildet werden sollen. Wortmann schreibt hierüber: „Man könnte ja geneigt sein, in diesem Falle das „Zuviel" durch Versuchsfehler er-

---

1) Wortmann, Untersuchungen über reine Hefen. I. Teil. (Landwirtschaftliche Jahrbücher 1892. p. 921—924.)

klären zu wollen, allein eine genauere Ueberlegung zeigt, daß hier wohl etwas anderes die Ursache ist. Wenn man auf die Tabelle (p. 922—923) blickt, so wird man finden, daß diese Ueberproduktion an Kohlensäure durch solche Hefen geschaffen ist, welche eine besonders langdauernde Gärthätigkeit entfalteten und welche gerade in den letzten Tagen der Gärung schwankende Mengen von Kohlensäure entwickeln; besonders die am längsten aushaltende Müllheimer Hefe läßt dieses schon vom 30. Juli etwa an erkennen. Diese in den letzten Tagen so unregelmäßig produzierten minimalen Kohlensäuremengen können keine Gärungskohlensäure mehr sein und demnach nicht aus dem — auch überhaupt gar nicht vorhandenen — Zucker gebildet sein, sondern ihre Entstehung ist so zu verstehen, daß die Hefe infolge des regelmäßigen Durchleitens von atmosphärischer Luft den ihr zugeführten Sauerstoff dazu benutzt, um einen Teil der in ihr enthaltenen Reservestoffe, Glykogen und Fett, welche sie während der Zeit der lebhaften Entwickelung und Ernährung aufspeichern konnte, wieder zu veratmen, wie das ja in gleicher Weise auch jede Reservestoffe enthaltende Zelle der höheren Pflanzen bekanntlich thut. Die angedeuteten minimalen Kohlensäuremengen wären demnach nicht Gärungs-, sondern Atmungskohlensäure. Nun verbietet die Natur der angestellten Versuche zu bestimmen, wann die Gärungs- oder Zuckerkohlensäure aufhört und die Atmungs- oder Glykogenkohlensäure anfängt, da man ohne den Versuch zu zerstören, nicht den Zeitpunkt des völligen Verschwindens des Zuckers feststellen kann; außerdem aber auch ist es mehr als wahrscheinlich, daß das Glykogen (oder die Reservestoffe überhaupt) nicht erst genau in demselben Augenblick in Angriff genommen werden, wenn eben die letzten Spuren von Zucker verschwunden sind, sondern daß jedenfalls schon vorher die Zelle ihren Reservestoffvorrat allmählich angreift, sobald überhaupt ein Zuckermangel sich bemerkbar macht. Daraus geht nun aber hervor, daß es überhaupt unmöglich ist, die nur durch Gärung, d. h. nur durch Zerlegung des Zuckers entstehende Kohlensäure exakt zu bestimmen [1].“

Im 2. Teil seiner „Untersuchungen über reine Hefen“ giebt Wortmann ferner ein Beispiel an, in welchem der Alkoholgehalt eines Weines um 0,88 Proz. höher gefunden wurde, als er nach der theoretischen Berechnung hätte sein sollen [2]. „Diese 0,88 Proz. des Alkohols können nach dem Ansatze nicht durch direkte Vergärung des Zuckers entstanden sein, weil hierfür keine nachweisbaren Zuckermengen direkt verbraucht worden sind. Sie können also nur von den nicht mehr direkte Gärthätigkeit ausübenden Hefezellen entstanden sein, welche in den inneren Schichten des Bodensatzes befindlich, beim Uebergang in den Ruhezustand noch eine Zeitlang Selbstgärung unterhalten haben, indem sie einen Teil der in ihnen enthaltenen Reservestoffe, Glykogen und Fett, langsam in Alkohol und Kohlensäure gespalten haben.“ . . . „Da es nun der Natur der Sache nach unmöglich ist zu bestimmen, wann die Hefezelle aufhört,

1) Wortmann, l. c. p. 924.
2) Wortmann, l. c. p. 557.

eigentlichen Gärungsalkohol zu bilden und anfängt, ihre Körpersubstanz zu zersetzen, weil eben beide Vorgänge ineinander übergehen, und wir außerdem in einem Hefesatze viele Zellen antreffen werden, welche keine direkte Gärung mehr unterhalten, während andere Zellen das noch ausschließlich thun, so ist es überhaupt ganz unmöglich, die Mengen des Alkohols genau zu bestimmen, welche durch den eigentlichen Gärungsvorgang, d. h. durch die direkte Zerlegung des Zuckers entstehen." . . . „Obwohl in einem Wein noch Zucker vorhanden ist, kann doch die direkte Vergärung still stehen, weil die Hefe durch die Alkoholwirkung so geschwächt ist, daß keine Verarbeitung des Zuckers mehr stattfinden kann. Dennoch aber entstehen unter solchen Umständen noch merkliche Quantitäten von Alkohol und zwar durch Vergärung des Zellinhaltes. Damit ist dann auch zugleich gesagt, daß und weshalb der durch die Analyse festgestellte Alkoholgehalt nie genau der vergorenen Zuckermenge entspricht."

Nach den gegebenen Mitteilungen Wortmann's war es nun aber erwünscht, der Frage nach dem Auftreten und Verschwinden des Glykogens in der Hefezelle näher zu treten, und deshalb veranlaßte mich mein verehrter Chef, Herr Professor Dr. Wortmann, mein Augenmerk besonders auf folgende Punkte zu richten:

1) Wann sind die ersten Spuren von Glykogen in den Hefezellen wahrnehmbar?

2) Wann tritt der Maximalgehalt an Glykogen in den Zellen ein?

3) Wann beginnt das Glykogen aus den Zellen zu verschwinden?

Durch die Behandlung dieser drei Fragen wurden einmal die Angaben, welche von früheren Forschern über das Auftreten und Verschwinden des Glykogens in der Hefezelle gemacht waren, einer Nachprüfung unterzogen; andererseits wurde die oben mitgeteilte Vermutung Wortmann's, daß das Glykogen nicht erst genau in demselben Augenblick in Angriff genommen wird, wenn eben die letzten Spuren von Zucker verschwunden sind, sondern daß jedenfalls schon vorher die Zelle ihren Reservestoffvorrat allmählich angreift, sobald überhaupt ein Zuckermangel sich bemerkbar macht, durch exakte Versuche begründet. Und endlich ergaben sich aus der Untersuchung neue Gesichtspunkte in betreff der Rolle, welche das Glykogen für das Leben der Hefezelle spielt.

Ueber das Auftreten und Verschwinden des Glykogens in der Hefezelle sind bereits im Jahre 1892 von H. Will[1]) interessante Angaben gemacht worden. Da ich mehrfach auf dieselben zurückgreifen werde, möchte ich sie in großen Umrissen meiner Untersuchung vorausschicken. Will hat Würze mit einer geringen Menge von im gärenden Zustand befindlicher Hefe gemischt und von derselben einen Tropfen auf je einen Objektträger gebracht. Nach 3 Stunden sind einzelne der Tochterzellen schon zu einem kleinen, etwa 1 μ großen Knöpfchen mit ziemlich feinschaumigem Inhalte herangewachsen

1) Will, H., Die Hefezelle, deren Aussehen und Beschaffenheit in den verschiedenen Stadien der Entwickelung und des Zerfallens unter dem Mikroskop. (Allgemeine Brauer- und Hopfenzeitung. 1892. No. 67. p. 1088—1091.)

„Das ebenfalls vielfach feinschaumig gewordene Protoplasma der Mutterzellen ist von sehr viel Fetttröpfchen durchsetzt und giebt mit Jod noch die Glykogenreaktion, aber etwas schwächer als ursprünglich. Die junge Tochterzelle reagiert dagegen auf Jod nur mit gelber Farbe.“

„Nach etwa 5 Stunden sind die jungen Tochterzellen schon bis zu etwa einem Drittel oder der Hälfte der Größe der Mutterzelle herangewachsen, einzelne haben die Größe der Mutterzelle nahezu erreicht und entwickeln nun schon selbst wieder eine Tochterzelle, während die ursprüngliche Mutterzelle am entgegengesetzten Pole häufig ebenfalls eine zweite Tochterzelle in den ersten Entwickelungsstadien trägt . . . Die Mutterzelle reagiert jetzt auf Jod nur mehr mit gelber Farbe, höchstens liegt noch ein schwacher bräunlicher Färbeton über dem Plasma. Das als Reservestoff aufgehäufte Glykogen ist also als solches verschwunden, es ist zum Aufbau der Tochterzellen, deren Inhalt ebenfalls nur eine Gelbfärbung annimmt, verwendet worden. Der Zeitpunkt, zu welchem das Glykogen vollständig verschwunden ist, kann natürlich, je nach der Menge des angehäuften Reservestoffes, früher oder auch später eintreten.“

„Setzt man 24 Stunden nach der Aussaat der Hefen Jodlösung zum Präparat, so kommt an sämtlichen Zellen der großen Sproßverbände die Glykogenreaktion wieder zum Vorschein, „und zwar tritt die rotbraune Färbung entweder nur an einzelnen, eng umgrenzten Stellen auf, oder das Körnerplasma ist schon in seiner ganzen Ausdehnung mehr oder weniger rotbraun gefärbt. Die Hefezelle beginnt also den Reservestoff wieder aufzuspeichern.

„Werden die Beobachtungen noch einige Stunden hindurch fortgesetzt, so findet man, daß die Sproßverbände zerfallen. „Das Polioplasma nimmt wieder an Ausdehnung zu, es wird homogen und glänzend und giebt mit Jod eine gleichmäßig ausgebreitete, intensive Glykogenreaktion . . . Die neue Generation von Hefezellen nähert sich also in ihrem Aussehen und ihrer Beschaffenheit mehr und mehr den Mutterzellen, welche wir in die Würze auf den Objektträgern eingeimpft haben.“

„Parallelbeobachtungen von im Bottich gärender Hefe ergeben im wesentlichen dasselbe Bild wie in den Objektträgerkulturen, nur teilen sich die einzelnen Phasen infolge der niedrigeren Temperatur, bei welcher die Bottichgärung verläuft, auf größere Zeiträume.“

Will macht dann auch die Beobachtung, daß sich bei der allmählichen Verteilung der Jodjodkaliumlösung unter dem Deckglas einzelne Hefezellen ohne Vakuolen sofort sehr intensiv rotbraun färben, bevor noch an den übrigen die braunviolette Färbung deutlich wahrnehmbar ist.

Nach Will tritt also in den ersten Stadien der Hefeentwickelung Glykogen in den Zellen nicht auf. Die Hefezelle ist aber nach ihm am Schlusse der Hauptgärung, nachdem sie ihre lebhafte Thätigkeit eingestellt hat und in ein gewisses Ruhestadium eingetreten ist, reich an Glykogen. Es wird „von der Hefe bei günstiger Ernährung in großen Mengen (nach Laurent betrug dasselbe in einem Versuch 32,58 Proz. des Trockengewichtes der Hefe) als Reservestoff

angehäuft, in der gleichen Weise, wie von höheren Pflanzen die Stärke."

„Wird dickbreiige Hefe bei gewöhnlicher Temperatur sich selbst überlassen, so tritt bekanntlich Selbstgärung unter Entwickelung von Alkohol und Kohlensäure ein. Die gleiche Erscheinung findet bei Aufbewahrung der Hefe unter Wasser, wenn auch viel langsamer, statt. Dabei nimmt das Glykogen anfangs schnell, später langsam ab, bis das Protoplasma der Zellen auf Jod nur mehr mit goldgelber Farbe reagiert."

Will hat dann endlich einen Hefeabsatz, welcher sich in Würze 2—3 Wochen bei gewöhnlicher Temperatur selbst überlassen war, untersucht und gefunden, daß sich der Inhalt aller dieser Zellen mit Jodlösung nur gelb färbte; das Glykogen ist also vollständig verbraucht worden.

Bei der Durchsicht von Präparaten aus alten Hefekulturen fand Will noch Zellen, deren Inhalt sich bei Zusatz von Jod sofort intensiv rotbraun färbte. „Nach ihrem ganzen Aussehen machen diese Zellen den Eindruck, als ob sie noch lebensfähig wären. Thatsächlich sind sie jedoch tot; sie speichern sofort verdünnte Anilinfarblösungen auf, und auch der Keimversuch läßt keinen Zweifel hierüber aufkommen. Es liegen hier Zellen vor, welche zu einer Zeit, als sie noch dicht mit Glykogen erfüllt waren, abstarben . . . Die gleichen Zellen finden wir meist in geringer Anzahl schon in der dem Bottich unmittelbar nach beendigter Hauptgärung entnommenen Hefe wieder vor; es sind dies diejenigen, welche sich bei Jodzusatz sofort intensiv rotbraun färben. Der Inhalt dieser mit Glykogen erfüllten toten Zellen zerfällt sehr langsam; man findet dieselben in wenig verändertem Zustande noch in mehrere Jahre alten Kulturen vor."

Die Angaben P. Lindner's[1]) über das Auftreten und Verschwinden des Glykogens in der Hefezelle decken sich mit denen Will's. Nach Lindner ist das Glykogen in den ersten Stadien der Hauptgärung in den Hefezellen auch nicht nachweisbar. Am Schluß der Hauptgärung ist die Kulturhefe immer ziemlich reich an Glykogen. Wenn dickbreiige Hefe in Selbstgärung übergeht, verschwindet das Glykogen in der Mehrzahl der Zellen. „Wenn wir Betriebshefe unter Luftabschluß zwischen Objektträger, Deckgläschen und Vaselinring lange Zeit halten, dann sterben die meisten Zellen allmählich ab; an einzelnen Punkten aber erwacht neues Leben, es entstehen herrliche Sproßbäumchen, deren Gliederzellen ein homogenes stark glänzendes und glykogenhaltiges Plasma aufweisen. Woher kommt dieses und welche Rolle spielt es bei fehlendem Sauerstoff? Solche Zellen in frische Würze gebracht, sprossen schnell aus und verhalten sich wie junge Hefe. Die Forschung müßte in der nächsten Zeit dem Glykogen eine größere Beachtung schenken. Auch in der Frage der Nachgärung dürfte es eine Rolle spielen; ermattete, geschwächte Zellen enthalten es nicht mehr[2])."

---

1) Lindner, Paul, Mikroskopische Betriebskontrolle in den Gärungsgewerben. 2. Aufl. Berlin 1898. p. 254—256.

2) Lindner, l. c. p. 255.

Eine gelegentliche Beobachtung Wortmann's ergab ferner die Thatsache, daß unter Umständen Weinhefe, die sich im gärenden Zustand befand, mit Jod nicht die bekannte Glykogenreaktion, sondern nur Gelbfärbung zeigte. Man hätte nach einer Bemerkung Lindner's[1]) vermuten können, daß wegen des Eintrittes der Gelbfärbung in den betreffenden Zellen überhaupt kein Glykogen enthalten war, ähnlich wie ich es seiner Zeit[2]) bei einer in der Versuchsstation zu Geisenheim reingezüchteten „Winningen"hefe bemerkte. Durch langes Beobachten solcher nur gelb gefärbten, gärenden Hefezellen stellte sich jedoch heraus, daß ganz allmählich eine wenn auch nur sehr schwache Rotbraunfärbnng erfolgte, die immerhin die Gegenwart von Glykogen in den Zellen ankündete.

Um nun unter Berücksichtigung der mitgeteilten Litteraturangaben die Beobachtungen über das Auftreten und Verschwinden des Glykogens in der Hefezelle möglichst umfassend zu gestalten, wurden 28 reingezüchtete Weinheferassen, die der Sammlung der Geisenheimer Versuchsstation entnommen wurden, zur Untersuchung herangezogen. Damit später nur die betreffenden Nummern der Rassen angeführt zu werden brauchen, will ich die Rassen gleich an dieser Stelle aufzählen:

1) Schloß Johannisberg
2) Rüdesheimer Hinterhaus
3) Steinberg 1892
4) Champagne-Ay
5) Aßmannshausen
6) Ungstein
7) Dürkheim
8) Piesport
9) Winningen
10) Arry
11) Walporzheim
12) Ahrweiler
13) Rappoltsweiler
14) Würzburg Schalksberg
15) Würzburg Stein
16) Johannisberg
17) Steinberg 1893
18) Marcobrunn
19) Hattenheim
20) Rüdesheimer Berg
21) Rüdesheimer Hinterhaus
22) Geisenheimer Rothenberg
23) Geisenheimer Begt
24) Liebfraumilch
25) Berncastel Doktor
26) Schloß Vollrads
27) Oppenheimer Kreuz
28) Laureiro (Portugal)

Diese Rassen wurden aus den ersten Stammkulturen in Freudenreich'schen Kölbchen einmal in sterilisiertem, geschöntem Traubenmost aufgefrischt und, nachdem die Moste in Gärung gekommen waren, zu den Versuchen verwendet.

Um das erste Auftreten des Glykogens in der Hefezelle beobachten zu können, wurden 2 Wege eingeschlagen: Erstens wurden je 10 ccm filtrierten und sterilisierten Traubenmostes, der sich in mit Wattestopfen versehenen Reagensgläsern befand, mit je einer Oese voll von den gärenden, eben erwähnten Mosten geimpft (19. Februar 1900; abends $^1/_2$6 Uhr); zweitens wurde nach Will's Verfahren Traubenmost mit einer geringen Menge Weinhefe in gärendem Zustand gemischt und von demselben je ein Tropfen auf 10 Deckgläser, die

1) Lindner, l. c. p. 255.

2) Meißner, Studien über das Zähewerden von Most und Wein. (Landwirtschaftliche Jahrbücher 1898. p. 729.)

ausgehöhlten Objektträgern aufgelegt wurden, gebracht. (2. Mai 1900, mittags $^{1}/_{2}$12 Uhr.)

Die am 19. Februar in den Most geimpften Hefen wurden am 20. Februar, nachmittags $^{1}/_{2}$4 Uhr zum ersten Male untersucht, und zwar wird zu diesem Zwecke unter allen Kautelen mit der sterilen Impfnadel ein Tropfen Most auf den Objektträger gebracht. Zu dieser Zeit befinden sich die Hefen im Zustande der Sprossung. Es werden kleine Sproßverbände beobachtet; die Zellen treten je nach der Vermehrungsgeschwindigkeit der einzelnen Rassen bald in zahlreicher, bald in geringer Menge im Präparat auf. Sie zeigen aber alle den Typus sprossender Zellen, das Plasma ist schaumartig und von Vakuolen durchsetzt. Die Temperatur des Dunkelschrankes, in welchem die Kulturen aufgestellt sind, beträgt 18 ° C.

Wie oben angegeben wurde, ist das Glykogen nach Will und Lindner in den ersten Stadien der Hauptgärung in den Hefezellen nicht nachweisbar. Mit einer verdünnten Lösung von Jod in Jodkalium bekam auch ich nur eine Gelbfärbung der Zellen. Dieselbe änderte sich nicht, selbst nachdem das Jod 3 Minuten lang auf die Zellen eingewirkt hatte. Ein anderes Resultat dagegen erhielt ich, wenn ich eine zweite Hefeprobe aus demselben Moste durch Erhitzen auf dem Objektträger abtötete. Alsdann trat mit derselben schwachen Jodlösung momentan Rotbraunfärbung des Zellinnern ein. Diese Erscheinung beruht offenbar darauf, daß lebenskräftige sprossende Hefe gegen die Einwirkung des Jods eine größere Widerstandskraft als Hefe im toten Zustande besitzt, und daß das Plasma erst für Jod durchlässig sein muß, ehe die Glykogenreaktion eintreten kann. In diesem Sinne schreibt auch Will[1]: „Die Hautschicht ist für die lebende Zelle von hoher Bedeutung, insofern sie nicht allein darüber entscheidet, ob ein Körper in das Innere derselben gelangt, sondern durch sie gewinnt die Zelle auch die wichtige Eigenschaft, gelöste Stoffe zurückzuhalten. Wässerige Farbstofflösungen werden beispielsweise wohl von der Zellmembran aufgenommen, während das Hautplasma dieselben nicht durch sie hindurchläßt. Es färben sich also die Hefezellen mit wenigen Ausnahmen nicht, wenn man eine sehr verdünnte, wässerige Lösung eines Anilinfarbstoffes auf dieselben einwirken läßt . . . . Läßt man auf solche (mit absolutem Alkohol behandelte) Hefenzellen sehr verdünnte Farblösungen einwirken, so speichert der kontrahierte Zellinhalt sofort den Farbstoff auf und erscheint intensiver als die umgebende Lösung gefärbt . . . Gleichzeitig werden aber die Hefezellen durch die Behandlung mit Alkohol abgetötet, und hierbei ändert das Hautplasma sein Verhalten genüber verdünnten Anilinfarben."

Das Gelingen der Glykogenreaktion mittels Jodjodkaliumlösung hängt also in erster Linie davon ab, daß durch die Jodlösung die Zelle getötet wird. Wendet man eine stark verdünnte Jodjodkaliumlösung an, so erhält man eben nur eine Gelbfärbung der sprossenden Hefezellen, obwohl in denselben Glykogen enthalten ist. Der Fehler, den ich seiner Zeit, als ich der „Winningen"hefe den Gehalt an

1) Will, l. c. p. 1088.

Glykogen absprach, begangen habe, ist auch dadurch geschehen, daß ich mit zu schwacher Jodlösung arbeitete, bezw. nicht lange genug wartete, bis das Plasma durchlässig für Jod war. Hierauf ist es wohl auch zurückzuführen, wenn Will und Lindner in den sprossenden Hefezellen die Gegenwart von Glykogen nicht konstatieren konnten. Beide Forscher geben leider in ihren Arbeiten nicht an, wie die Jodjodkaliumlösung zusammengesetzt war, die sie zu ihren Untersuchungen benutzten.

Auf Grund der eben angedeuteten Ueberlegungen stellte ich mir eine konzentrierte Lösung von Jod in Jodkalium dar, indem ich auf 100 ccm dest. Wasser, 20 g Jodkalium und 7 g Jod gab.

Mit dieser Jodlösung erhielt ich dann schnell und scharf die Glykogenreaktion in den sprossenden Hefezellen, und zwar bei allen 28 untersuchten Weinheferassen. Ob sich die Bier-Kulturhefen anders in dieser Hinsicht verhalten, als Weinhefen, müßten Nachuntersuchungen ergeben. Bei den Weinhefen zeigten selbst Tochtersprosse, die etwa erst $^1/_5$ Längendurchmesser der Mutterzelle erreicht hatten, auf Zusatz der konzentrierten Jodlösung nahezu dieselbe Rotbraunfärbung wie die Mutterzellen. Nur die ganz kleinen Sprößchen, die eben erst als kleine Ausstülpungen an der Mutterzelle sichtbar wurden, erschienen gelb gefärbt.

Betrachtet man ein Präparat, dem man am Deckglasrand einen Tropfen konzentrierter Jodlösung hinzugefügt hat, an verschiedenen Stellen, so kann man deutlich 3 Regionen unterscheiden. In der einen, in welcher die Hefezellen sich gelb färben, während die umgebende Flüssigkeit farblos bleibt, ändert sich die Gelbfärbung der Zellen längere Zeit hindurch nicht; erst ganz allmählich tritt unter Umständen ganz leichte Rotbraunfärbung ein. Verschiebt man aber das Präparat nach der Stelle zu, wo die die Hefezellen umgebende Flüssigkeit schwach gelb erscheint, so nimmt man deutliche Rotbraunfärbung der Zellen wahr. In dem Teil des Gesichtsfeldes endlich, in welchem die Flüssigkeit intensiv gelb gefärbt ist, heben sich die rotbraun gefärbten Hefezellen scharf von der sie umgebenden gelben Flüssigkeit ab. Es geht hieraus hervor, daß eine Zunahme in der Konzentration der angewendeten Jodlösung auch eine schnellere und intensivere Glykogenreaktion zur Folge hat. Die Gründe für diese Erscheinung sind bereits oben erwähnt.

Will hat bei seinen Objektträgerversuchen nach 24 Stunden Sproßverbände von Hefen bekommen, deren einzelne Zellen sich durch Zusatz von Jodlösung auch braun färbten. Diese Zellen näherten sich aber in ihrer Entwickelung dem gärenden Zustand, wie aus der oben mitgeteilten Darstellung Will's hervorgeht. Meine nach dieser Richtung vorgenommenen Untersuchungen zeigten jedoch, daß, entgegen den Will'schen Ausführungen für Bierhefen, einmal ein vollständiges Verschwinden des Glykogens aus den sprossenden Mutterzellen nicht stattfand. Die Rotbraunfärbung der sprossenden Mutterzellen war fast so intensiv wie diejenigen der nicht sprossenden Kontrollhefen. Zweitens wurde, wie es oben geschildert ist, schon bei denjenigen Tochtersprossen, die etwa erst $^1/_5$ Längendurchmesser der Mutterzellen zeigten, deutliche Glykogenreaktion erzielt,

während sich die ganz kleinen Ausstülpungen an den Mutterzellen, die Anfänge junger Sprosse, nur gelb färbten.

Am 21. Februar, also 2 Tage nach der Aussaat der Hefen in den Most der Reagenzgläser, sind sämtliche 28 Moste in schwacher Gärung. Am 23. Februar wurden die Hefen abermals mikroskopisch untersucht. Zu dieser Zeit waren die Moste stark in Gärung gekommen; die Hefezellen befanden sich im sogenannten gärenden Zustand. Die mikroskopische Untersuchung ergab wesentliche Unterschiede zwischen den einzelnen Heferassen, sowohl in Bezug auf ihr Verhalten gegenüber der konzentrierten Jodlösung als auch in Bezug auf die Beschaffenheit des Plasmas. Beide Fälle sollen gesondert behandelt werden. Vorausschicken möchte ich aber die allgemeine Beobachtung, daß bei sämtlichen 28 Heferassen die am 23. Februar bereits in Ruhe übergegangenen, wenigen Zellen sich schneller und intensiver braun färbten als die zahlreichen Hefezellen im gärenden Zustand in derselben Zeit. Damit ist die Beobachtung Will's bestätigt.

Durch die mikroskopische Untersuchung der 28 Heferassen im gärenden Zustand ergab sich zunächst der Unterschied, daß einige Rassen durch die Einwirkung des Jods zuerst gelb und dann nach einiger Zeit braun gefärbt wurden. Hierher gehören die Rassen: 1, 2, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 21, 22, 23, 24, 27 = 20 Rassen. Die übrigen 8 untersuchten Rassen: 3, 4, 5, 13, 20, 25, 26, 28 zeigten auf Jodzusatz auch erst Gelbfärbung, aber es trat bei ihnen fast gleichzeitig mit der Gelbfärbung die intensive Braunfärbung auf. Dabei wurde die merkwürdige Erscheinung beobachtet, worauf auch schon Will und Lindner hinweisen, daß nämlich das Glykogen nicht in gleichmäßiger Verteilung, sondern an bestimmten Stellen des plasmatischen Inhaltes der Zellen reichlich anzutreffen ist. Man konnte dabei deutlich unterscheiden, wie der weniger glykogenhaltige Teil des Plasmas gelb erschien, und wie erst allmählich eine Bräunung des ganzen Zellinnern eintrat, gleich wie es bei denjenigen Rassen der Fall ist, bei denen erst nach einiger Zeit durch die Einwirkung des Jods Rotbraun- bezw. Dunkelbraunfärbung des Plasmas auftritt.

Zweitens aber macht sich zwischen den untersuchten Rassen der Unterschied geltend, daß die Zellen im gärenden Zustande bei einigen Rassen noch Vakuolen enthalten, während die Zellen anderer Rassen das typische Bild von gärenden Hefezellen darbieten. In dem letzteren Falle erscheint der Inhalt der Zellen homogen, zeigt keine Vakuolen und besitzt in ausgeprägtem Maße das eigentümliche, stahlblau-seidenglänzende Aussehen, so z. B. bei den Rassen 3, 5, 11, 15, 21, 24. Es gehören also in die letztere Kategorie Rassen, deren Zellen durch Jod erst gelb und nach einiger Zeit braun gefärbt werden, als auch solche, bei denen die Braunfärbung der Zellen fast gleichzeitig mit der Gelbfärbung auftritt.

(Schluß folgt.)

Nachdruck verboten.

Ueber den Einfluss der Bakterien auf die Knochenzersetzung.

Von Prof. Dr. **Jul. Stoklasa,**
Leiter der landwirtschaftlich-physiologischen Versuchsstation in Prag.
Unter Mitwirkung der Assistenten F. Ducháček und J. Pitra.

Mit 9 Tafeln und 1 Figur.

Den Gegenstand dieser Studie bildet der vom biologischen wie auch agronomischen Standpunkte interessante Prozeß der Zersetzung des Knochenmehls durch Mikroben.

Auf eine Besprechung der Zusammensetzung des Knochenmehls will ich hier nicht eingehen, da dieselbe genügend bekannt ist und ich bereits auf einer anderen Stelle dessen Konstitution sowie den Einfluß der Fabrikationsmethode auf dessen Zusammensetzung besprochen habe [1]).

Studien über die Zersetzung der Knochen durch Mikroben wurden bisher nicht vorgenommen, sondern die verwandten Forschungen haben sich vielmehr nur auf die bei der Fäulnis von Glutin, Chondrin resp. Gelatine stattfindenden Prozesse beschränkt. Nencki [2]) war der erste, der schon im Jahre 1876 die durch Pankreasfermente hervorgerufenen Fäulnisprozesse studiert und darauf hingewiesen hat, daß die Zersetzungsprodukte des Albumins von jenen des Glutins sich nicht nur quantitativ, sondern auch qualitativ unterscheiden. Nencki hat schon damals betont, daß bei der Fäulnis des Glutins immer Leucin und Glykokoll, nie aber Tyrosin entsteht, und ebenso hat er hierbei auch die Gegenwart von Indol und Phenol nie beobachtet. Dieselben Wahrnehmungen machten auch Schützenberger [3]) und Brieger; der letztgenannte Autor hat

---

1) Stoklasa, Jul., Ueber die Konstitution des Knochenmehls. (Chemiker-Ztg. 1880.) — Wie ist der Nährstoffwert des Knochenmehls zu bestimmen? (Oestr.-ungar. Zeitschr. f. Z. u. L. 1897.)

Die zur Erzeugung des Knochenmehls verwendeten Knochen wiesen nach unseren Analysen folgende durchschnittliche Zusammensetzung auf:

Wasser	18 Proz.
Fett	11 ,,
Glutin und Chondrin	17 ,,
Anorganische Stoffe	54 ,,

	Knochenmehl erzeugt nach der alten Methode durch Dämpfung ohne Fettextraktion mittels Benzin	Knochenmehl erzeugt nach der neuen Methode nach der Extraktion d. Fettes aus den Knochen mittels Benzin
Gesamtstickstoff	4,3 Proz.	5,5 Proz.
Mittels Chloroform entfernbarer Stickstoff	1,2 ,,	0,7 ,,
Fett	5,6 ,,	1,5 ,,
Phosphorsäure	18,6 ,,	21,5 ,,
Wasser	10,4 ,,	8,8 ,,

2) Ueber die Zersetzung der Gelatine und des Eiweißes bei der Fäulnis mit Pankreas. Bern 1876.

3) Les fermentations. Paris 1876.

überdies bei der Zersetzung der Gelatine die Bildung von Neuridin konstatiert [1]).

Nencki hat schon nach 5-tägiger Einwirkung von Pankreasfermenten bei ständigem Luftzutritte folgende Zersetzung trockener aschenfreier Gelatine (432 g) beobachtet:

Ammoniak	9,1	Proz.
Kohlensäure	4,6	„
Buttersäure	28,5	„
Glykokoll	9,13	„

Dr. J. Jeannert[2]) hat interessante Belege über die Zersetzung der Gelatine unter Einwirkung von Pankreasfermenten bei Luftzutritt bezw. Luftausschluß veröffentlicht. Ich führe hier einige von diesem Autor publizierte Zersetzungsprodukte, wie er dieselben nach verschiedenen Zeitabschnitten bei der Zersetzung der Gelatine bei Luftabschluß konstatiert hat:

	Nach 11 Tagen		Nach 16 Tagen		Nach 19 Tagen	
	g	Proz.	g	Proz.	g	Proz.
Ammoniak	9,83	5,99	10,65	8,63	9,82	10,68
Kohlensäure	17,06	10,39	9,56	7,74	5,27	6,38
Buttersäure	55,75	33,93	43,66	35,37	26,15	31,67
Glykokol	5,54	3,37	2,50	2,03	7,33	8,88
Isolierte Produkte	88,18	53,68	66,37	53,77	48,57	57,61
	für 164,27 g		für 123,43 g		für 82,58 g	
	aschenfreier Gelatine					

Jeannert deduziert aus seinen Beobachtungen, daß bei Luftausschluß die Pankreasfermente die Zersetzung der Gelatine energisch fördern, obgleich dies langsamer geschieht als bei freiem Luftzutritt zu dem in Zersetzung befindlichen Medium. Diese Deduktion konnte ich aus den Versuchen Jeannert's nicht ableiten, obwohl sie richtig ist, wie durch unsere Versuche später hinreichend bewiesen werden wird.

Nencki erklärt in seiner klassischen Arbeit „Der chemische Mechanismus der Fäulnis“ [3]), daß die Prozesse bei der durch Mikroben hervorgerufenen Fäulnis der Proteïne jenen analog sind, welche beim Schmelzen mit Kaliumhydroxyd stattfinden [4]), und ist der Ansicht, daß in den Hydratationsprozessen fäulniserregender Mikroben das Wasser die Funktion des Kaliumhydroxyds übernimmt.

Nencki erläutert z. B. die Metamorphose des Leucins durch die Fäulnis nachstehend: Die Mikroben zersetzen das Wasser in

1) Gautier, Armand, Leçons de chimie biologique. Paris 1897.

2) Jeannert, Jul., Untersuchungen über die Zersetzung von Gelatine und Eiweiß durch die geformten Pankreasfermente bei Luftausschluß. (Journ. f. prakt. Chem. Bd. XV. 1877.)

3) Journ. f. prakt. Chem. Bd. XVII. 1878.

4) Wie bei der durch gewisse Mikrobengattungen hervorgerufenen Milchgärung aus dem Zucker die Milchsäure entsteht, ebenso hat schon Schützenberger bemerkt, daß bei der Hydratation, welche durch Erwärmen von Zucker mit Baryumhydrat bewirkt wird, die Milchsäure in großer Menge gebildet wird.

Wasserstoff und Hydroxyl, welche auf das Leucin, wie folgt, einwirken:

(Wir belassen hier die Formeln unverändert, wie sie im Original enthalten sind, so z. B. die Leucinformel, obwohl es heute bekannt ist, daß es Aminosäure in der a-Lage ist, u. s. w.)

$$\begin{array}{l} NH_2 \\ | \\ CH_2 \\ | \\ (CH_2)_4 \\ | \\ CO_2H \end{array} + \begin{array}{c} OH \\ H \end{array} = NH_3 + OH - CH_2.(CH_2)_4.CO_2H.$$

Die entstandene Oxykapronsäure wird sodann durch das zweite Wassermolekül sofort in Methylenglykol und die Valeriansäure gespaltet.

$$\begin{array}{l} OH \\ | \\ CH_2 \\ | \\ (CH_2)_4 \\ | \\ CO_2H \end{array} + \begin{array}{c} OH \\ H \end{array} = CH_2(OH)_2 + CH_3.(CH_2)_3.CO_2H. -$$

Das Methylenglykol, welches in Formaldehyd und Wasser übergeht, wird nun ebenso in Kohlensäure und Wasserstoff gespaltet, wie es sich beim Schmelzen mit Aetzkali zersetzen würde:

$$C{}^{H}_{H}O + \begin{array}{c} H.OH \\ H.OH \end{array} = CO \left\langle \begin{array}{l} OH \\ OH \end{array} \right. + 2H_2.$$

Zersetzt man Eiweißstoffe durch Säuren, Alkalien oder das Trypsin, so erhält man, wie bekannt, nebst den Amidosäuren der Fettreihe auch Amidosäuren der aromatischen Reihe. Als ein durchaus konstantes Produkt zeigt sich immer das Tyrosin; außer diesem hat aber E. Schulze als eine zweite aromatische Amidosäure aus pflanzlichen Eiweißstoffen das Fenylalanin entdeckt. Die Bildung dieser Amidosäure deutet nun dahin, daß die Eiweißstoffe Gruppen der aromatischen Reihe enthalten.

Das interessanteste Faktum ist, daß, wenn man die Forschungen Drechsel's über die Zersetzung der Eiweißstoffe in der tierischen Zelle mit der Arbeit E. Schulze's über den gleichen Gegenstand, jedoch betreffs der Pflanzenzelle mit meinen neuesten Beobachtungen über die durch Mikroben bewirkte Zersetzung von Eiweißstoffen aus dem Tier- und Pflanzenreiche[1]) vergleicht, man nahezu eine gänzliche Uebereinstimmung in den entstandenen Produkten der Vitalprozesse konstatieren kann. Allerdings wirken die verschiedenen Bakterienarten auf die Hydratation der Eiweißstoffe in Bezug auf die proportionelle Menge der entstandenen Produkte ebenfalls ungleichmäßig ein.

1) Stoklasa, J., Biologische Studien über Alinit. (Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. III. 1897; Bd. IV. 1898.)

I. Versuche in der biologischen Kammer.

Zum Studium der Zersetzung des Knochenmehls habe ich folgende Mikrobenspecies gewählt und zwar: Bacillus megatherium, Bac. fluorescens liquefaciens, Bac. proteus vulgaris, Bac. butyricus Hueppe, Bac. mycoides, Bac. mesentericus vulgatus.

In einen 2300 ccm fassenden Kolben wurden 10 g fein durchgesiebten Knochenmehls gebracht und diesem 100 ccm Nährstofflösung und 800 ccm Wasser zugesetzt.

Die Nährstofflösung wurde folgendermaßen bereitet: Pro 1000 ccm Lösung wurden in destilliertem Wasser gelöst:

1,0 g Kaliumsulfat,
0,5 g Magnesiumchlorid und
0,1 g Eisensulfat.

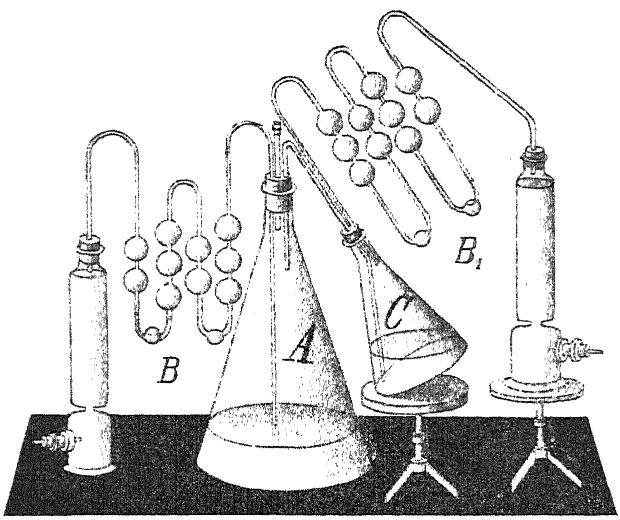
Das feingemahlene Knochenmehl enthielt:

19,8 Proz. Phosphorsäure,
5,26 „ Stickstoff,
1,5 „ Fett.

Auf diese Weise wurden im ganzen 20 Kolben zubereitet.

Nach gründlicher Sterilisation wurden davon nach dem Inkubationsstadium, welches im ganzen 20 Tage währte, 18 Kolben mit absolut reinen Kulturen aus dem bakteriologischen Laboratorium F. Král's in Prag infiziert[1]). Ein Teil der Kolben wurde mit Fangapparaten verbunden, in welchen sich normale Schwefelsäure befand, und durch den ganzen Apparat wurde keimfreie Luft getrieben.

Die ganze Anordnung der Apparate ist aus der folgenden Abbildung ersichtlich.



1) Es sei hier bemerkt, daß mit allen erwähnten Kulturen zuerst Lösung von Pepton mit Glukose bei Gegenwart aller anorganischen Nährstoffe infiziert wurden und

Der Erlenmayer'sche Kolben *A* mit dem Nährsubstrat ist auf beiden Seiten mit den Kugelapparaten *B* und B_1, welche mit Schwefelsäure gefüllt sind, verbunden; der kleine Kolben *C* enthält die Normalschwefelsäure. An beiden Enden des Apparates befinden sich 2 mit sterilisierter Baumwolle gefüllte Cylinder. Der ganze Apparat wurde sterilisiert; die Einwirkung der Mikroben auf das Knochenmehl dauerte seit dem Tage der Infektion im ganzen 33 Tage.

Bei der Analyse des Inhaltes einzelner infizierter Kolben, die mit sterilisierter Baumwolle einfach zugestopft waren und durch welche die Luft nicht getrieben wurde, wurde eine vollkommene Uebereinstimmung der Stickstoffmenge in den Amid- und Diaminoformen konstatiert (siehe weiter unten), weshalb von der weiteren Analyse dieser Serie Umgang genommen und die Aufmerksamkeit lediglich den mittels der oben beschriebenen Apparate ausgeführten Versuchen zugewendet wurde.

A. Bestimmung des Stickstoffes.

Zur Bestimmung des Stickstoffes habe ich eine Methode angewendet, welche, auf den Grundaxiomen Hlasiwetz', Habermann's[1]), Cohn's[2]) und Nasse's[3]) über den Charakter der Eiweißkörper fußend, im Laboratorium F. Hofmeister's an der Straßburger Universität von Walther Haußmann[4]) ausgearbeitet wurde.

Um einen gewissen orientierenden Einblick in die Bindungsweise des Stickstoffes in den tierischen Proteïnkörpern zu erhalten, bestimmt der genannte Autor nach der Zersetzung mittels Salzsäure nebst dem Gesamtstickstoff 1) den in Form von Ammoniak abgespaltenen Stickstoff, 2) den Stickstoff basischer, durch Phosphorwolframsäure fällbare Verbindungen (Lysin, Arginin, Histidin etc.), 3) den fest gebundenen, zu den basischen Zersetzungsprodukten nicht gehörigen Stickstoff (Leucin, Tyrosin, Asparaginsäure, Glutaminsäure etc.). Der Kürze halber nennt Haußmann die erste Stickstoffform Amidstickstoff, die zweite Form Diaminostickstoff und die dritte Monaminostickstoff.

Diese Methode bietet eine interessante Uebersicht über die Verteilung des Stickstoffes in den einzelnen Eiweißkörpern. Man sieht z. B., daß der Amidstickstoff vertreten ist im Caseïn mit 13,37 Proz., im Edestin mit 10,25 Proz., im Globin nur mit 4,62 Proz., der Diaminostickstoff im Caseïn mit 11,71 Proz., im Edestin mit 38,15 Proz. und im Globin mit 29,37 Proz., schließlich der Monaminostickstoff im Caseïn mit 75,98 Proz., im Edestin mit 54,99 Proz. und im Globin mit 67,68 Proz.

---

erst mit Hilfe der in dieser einheitlichen Nährstofflösung wurde die Infektion der Lösungen mit Knochenmehl in den oben erwähnten Kolben vorgenommen.

1) Annal. d. Chem. u. Pharm. Bd. CLXIX.

2) Cohn, Rud., Ueber eine quantitative Eiweißspaltung durch Salzsäure. (Zeitschr. f. phys. Chem. Bd. XXVI u. XXII.)

3) Pflüger's Arch. Bd. VI u. VII.

4) Ueber die Verteilung des Stickstoffs im Eiweißmolekül. (Zeitschr. f. phys. Chem. Bd. XXVII u. XXIX.)

Bei der Bestimmung des Stickstoffes haben wir folgenden Vorgang beobachtet: Vom klaren Filtrate wurden 250—500 ccm abgemessen und in einem Apparate auf etwa 100 ccm abgedampft, welchen man bei der Bestimmung des Stickstoffes in Ammonsalzen anzuwenden pflegt. Das entweichende Ammoniak wurde im Fangapparate mit Normalschwefelsäure abgefangen. Nach gehöriger Abkühlung wurden 20 ccm konzentrierter Salzsäure zugesetzt und ein doppelt durchbohrter Stöpsel angebracht, durch dessen eine Oeffnung ein bis auf den Boden reichender, mit Glashahn versehener Trichter gesteckt, während die zweite Oeffnung mit einem mit Liebig's Kühlapparate verbundenen Glasrohre versehen war. Die Kochdauer währte 5 Stunden und wurde die kondensierte Flüssigkeit durch den Trichter immer von neuem in den Kolben zurückgebracht.

Nach gehöriger Abkühlung und sorgfältiger Neutralisation mit gebrannter Magnesia bei stetiger Abkühlung wurde endlich das Ammoniak aus dem Chlorammonium durch Magnesiumoxyd vertrieben.

Nach der Destillation wurde der Rückstand in der Salzsäure gelöst, die Lösung auf ein kleines Volumen abgedampft und mit Phosphorwolframsäure ausgefällt; nach 24—30 Stunden wurde der Niederschlag filtriert und mit stark verdünnter salzsäurehaltiger Phosphorwolframsäurelösung gewaschen, bis das Filtrat nicht mehr gelbgefärbt ablief. Der Niederschlag wurde sodann samt dem Filter in einen Kolben gebracht und der Stickstoff nach Kjeldahl bestimmt. — Das Filtrat wurde auf 250 ccm eingedampft und der Stickstoff entweder in dem Gesamtfiltrat oder in der Hälfte desselben ebenfalls nach Kjeldahl bestimmt. — Der in Form von Ammoniak bei der Konzentration von 500 auf 100 ccm abdestillierte Stickstoff wurde zu jenem Stickstoffe zugezählt, den man nach dem Kochen mit Salzsäure mit Hilfe der gebrannten Magnesia erhalten hatte.

In dem neuen abgemessenen Teile der ursprünglichen Lösung, und zwar in 250 ccm, wurde endlich nach entsprechender Konzentration die Bestimmung des Gesamtstickstoffes ebenfalls nach Kjeldahl durchgeführt. — Alle Analysenergebnisse sind auf 1000 ccm Flüssigkeit, somit auf 10 g Knochenmehl umgerechnet.

A. Nicht infiziertes Knochenmehl.

Amidstickstoff	0,016 g	im ganzen 0,349 g N
Diaminostickstoff	0,106 g	
Monaminostickstoff	0,227 g	
Gesamtstickstoff in der Lösung		0,369 g

B. Infiziertes Knochenmehl.

1) Bacillus megatherium.

Amidstickstoff	0,304 g	im ganzen 0,476 g N
Diaminostickstoff	0,102 g	
Monaminostickstoff	0,070 g	
Gesamtstickstoff in der Lösung		0,498 g

2) Bacillus fluorescens liquefaciens.

Amidstickstoff	0,113 g	im ganzen 0,474 g N
Diaminostickstoff	0,284 g	
Monaminostickstoff	0,077 g	
Gesamtstickstoff in der Lösung		0,500 g

3) Bacillus proteus vulgaris.

Amidstickstoff	0,200 g	im ganzen 0,467 g N
Diaminostickstoff	0,136 g	
Monaminostickstoff	0,131 g	
Gesamtstickstoff in der Lösung		0,459 g

4) Bacillus butyricus Hueppe.

Amidstickstoff	0,232 g	im ganzen 0,485 g N
Diaminostickstoff	0,073 g	
Monaminostickstoff	0,180 g	
Gesamtstickstoff in der Lösung		0,506 g

5) Bacillus mycoides.

Amidstickstoff	0,317 g	im ganzen 0,489 g N
Diaminostickstoff	0,044 g	
Monaminostickstoff	0,128 g	
Gesamtstickstoff in der Lösung		0,510 g

6) Bacillus mesentericus vulgatus.

Amidstickstoff	0,300 g	im ganzen 0,495 g N
Diaminostickstoff	0,195 g	
Monaminostickstoff	wurde nicht bestimmt	
Gesamtstickstoff in der Lösung		0,476 g

Aus den oben angeführten Daten sind die bedeutenden Differenzen in der Verteilung des Stickstoffes im Knochenmehlextrakte, herbeigeführt durch die Einwirkung verschiedener Mikroben, ersichtlich, und tritt hier deren chemische Wirkung in der umgerechneten Menge des gewonnenen Stickstoffes in den erwähnten Formen klar zu Tage. Allerdings kommen hier auch ziemlich auffallende Differenzen zwischen der Summa der einzelnen bestimmten Formen und dem Gesamtstickstoffe vor, und dürften diese wohl auf die Mängel der analytischen Methode zurückzuführen sein. Es sei hier eine tabellarische Uebersicht der oben erwähnten Ergebnisse in Prozenten angeführt:

Infiziert mit	Amid- Stickstoff	Diamino- Stickstoff	Monamino- Stickstoff	Differenz
Nicht infiziert	4,33	28,72	61,51	— 5,44
Bacillus megatherium	61,04	20,48	14,05	— 4,43
„ fluorescens liquefaciens	22,60	56,80	15,40	— 5,20
„ proteus vulgaris	43,57	29,62	28,54	+ 1,73
„ butyricus Hueppe	45,85	14,42	35,57	— 4,16
„ mycoides	62,15	8,62	25,09	— 4,14
„ mesentericus vulgatus	63,02	40,96	nicht konstatiert	+ 3,98

B. Bestimmung der Phosphorsäure.

Die Phosphorsäure wurde in abgemessenem Quantum der Lösung in der bekannten Weise bestimmt. 100—250 ccm klaren Filtrates wurden unter Zusatz von Salpetersäure auf ein kleineres Volumen eingedampft, sodann Salzsäure mit Kaliumchlorat zugesetzt und gekocht. Endlich wurde mit der Molybdänsolution gefällt.

Die gewonnenen Resultate sind wiederum mit Bezug auf die chemische Thätigkeit der einzelnen Mikrobengattungen sehr charakteristisch.

Wie eingangs erwähnt, enthielt das ursprüngliche Knochenmehl an Gesamtphosphorsäure 19,8 Proz.

Die in Lösung übergegangene Menge Phosphorsäure ist in nachstehender Tabelle auf 1000 ccm Lösung oder 10 g Knochenmehl umgerechnet und in Prozenten der Gesamtphosphorsäure ausgedrückt:

Infiziert mit	Von 10 g Knochenmehl haben sich gelöst g P_2O_5	Diese Menge in Prozenten der Gesamt-P_2O_5 ausgedrückt
Nicht infiziert	0,076	3,83
Bacillus megatherium	0,427	21,56
„ fluorescens liquefaciens	0,182	9,19
„ proteus vulgaris	0,293	14,79
„ butyricus Hueppe	0,308	15,55
„ mycoides	0,456	23,03
„ mesentericus vulgatus	0,408	20,60

Aus diesen Ergebnissen geht die übereinstimmende Thätigkeit der Bakterien bei der Auflösung der Phosphorsäure und des Stickstoffes aus dem Knochenmehl hervor[1]) und es sind auch hier die Mikroben Bacillus megatherium, Bac. mycoides und Bac. mesentericus vulgatus, welche in dieser Hinsicht besonders intensiv thätig waren. Gemäß unseren Beobachtungen hat es den Anschein, als ob das Calciumphosphat gemeinsam mit dem Calciumfluorid in Knochen in Form von organischen Verbindungen vorkommt und daß erst durch die Zersetzung der organischen Materie die Moleküle des Calciumphosphates den chemischen Agentien zugänglicher werden, die es entweder in Dicalcium- oder Monocalciumphosphat oder eventuell — wenn die Zersetzung noch weiter fortschreitet — bis in Phosphorsäure umwandeln.

Diese Prozesse zeigen sich uns auch bei der vitalen Thätigkeit der lebenden Mikrobenzelle. Die Kulturen einzelner Mikroben-

1) Wir berücksichtigen hier das Verhältnis zwischen der gebildeten Menge von Amidverbindungen und des Ammoniaks im Vergleich zu der löslichen Phosphorsäure bei Einwirkung verschiedener Mikrobengattungen. Unwillkürlich erinnert man sich dabei der inzwischen in Vergessenheit geratenen sogenannten Fermentation der Knochen oder des Knochenmehls mit Hilfe des Harns in besonderen Komposten, was früher, so lange das Knochenmehl nicht mittels Schwefelsäure zersetzt wurde, überaus verbreitet war. Diese Zersetzung fand mit Hilfe der Mikroben statt, und es geht aus unseren Versuchen hervor, daß eine solche Manipulation von Erfolg begleitet werden mußte.

specien wachsen auf Kosten des Nährsubstrats der Knochenmaterie auf große Kulturen heran, und mit der Thätigkeit dieser Mikroben hängt nicht nur eine intensive synthetische, sondern auch eine ungemein energische analytische Thätigkeit zusammen.

Die durch die lebende Mikrobenzelle ausgeschiedenen proteolytischen Enzyme rufen für ihre Assimilationsprozesse hydrolytische hervor; die lebende Materie der beständig sich vermehrenden Bakterien bildet sich sodann durch die molekulare Kondensation und die Dehydrationsprozesse nur aus den Zersetzungsprodukten des lebenden Zellprotoplasmas.

Charakteristische biologische Eigenschaften lehren uns, daß Bacillus megatherium de Bary[1], Bac. mycoides Flügge[2], Bac. mesentericus Flügge[3] (Bac. vulgatus Migula), Bac. butyricus Hueppe[4], Bac. vulgaris (Häuser) Migula, Proteus vulgaris[5] und Bac. fluorescens Flügge[6] (Pseudomonas fluorescens [Flügge] Migula) die Gelatine insgesamt peptonisieren, wenn auch mit einer ungleichen Energie. Alle die hier aufgezählten Mikrobengattungen scheiden proteolytische Enzyme aus, wie wir uns davon mit Hilfe der Fermi'schen Methode[7] überzeugt haben. Wir heben hier z. B. hervor, daß Bac. megatherium nicht nur proteolytische und diastatische, sondern auch ein Inversionsferment ausscheidet.

Aus der Biologie der erwähnten Mikroben ist bekannt, daß z. B. Bac. butyricus Hueppe normale Gelatine ungemein rasch peptonisiert, während der Zersetzungseffekt in unserem Falle nicht in dem Maße gefunden wurde, als man hätte vielleicht erwarten können, wenn man seine Thätigkeit in Bezug auf die Ausscheidung proteolytischer Enzyme in Betracht zieht. Bac. mycoides besitzt dagegen eine schwächere Fähigkeit zur Peptonisation normaler Gelatine als Bac. butyricus Hueppe und doch weist er bei unseren Versuchen weit größere Mengen von in Form von Amiden vertretenen Stickstoffes auf; Bac. mycoides ergiebt nämlich 62,15 Proz. Amidstickstoff, 8,62 Proz. Diaminostickstoff und 25,09 Proz. Monaminostickstoff, Bac. butyricus Hueppe dagegen 45,85 Proz.

---

1) Stoklasa, Jul., Biologische Studien über Alinit. (Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. IV. 1898.)

2) Flügge, Mikroorganismen. 1896.

3) Ibidem.

4) Hueppe, Untersuchungen über die Zersetzungen der Milch durch Mikroorganismen. (Mitteilungen aus dem Reichsgesundheitsamt. Bd. II. 1884.)

5) Häuser, Ueber Fäulnisbakterien. 1885.

6) Flügge, Mikroorganismen. 1886. — Ich verweise hier ferner auf die ausführliche Arbeit Migula's: System der Bakterien. Jena 1900.

7) Fermi, Claudio, Weitere Untersuchungen über die trypsischen Enzyme der Mikroorganismen. (Arch. f. Hygiene. Bd. XIV, weiter siehe Arch. f. Hygiene. Bd. X. u. XII. und endlich Centralbl. f. Bakt. etc. II. Abt. Bd. II. No. 16.) Umfangreich handelt über die Enzyme E. Duclaux in seiner klassischen Schrift: Traité de microbiologie. Paris 1898—1899 und Jean Effront in seiner neuesten Arbeit: Die Diastasen und ihre Rolle in der Praxis. I. Die Enzyme der Kohlenhydrate und die Oxydasen. Deutsche Uebersetzung von Max Bücheler. Bd. I. Wien 1900.

Amidstickstoff, 14,42 Proz. Diaminostickstoff und 35,57 Proz. Monaminostickstoff.

Eine Erklärung der erwähnten Erscheinungen dürfte darin erblickt werden, daß man die in den Knochen enthaltene Gelatine mit der beim Studium der Mikrobensystematik angewandten sogenannten normalen Gelatine nicht vergleichen darf, da die letztere, wie bekannt, keine reine Gelatine ist, nachdem sie Fleischextrakt, Pepton und Glukose enthält.

Faßt man die hier besprochenen Resultate zusammen, so kann man sagen, daß die durch einzelne Mikrobengattungen hervorgerufenen hydrolytischen Prozesse eine vollkommene Uebereinstimmung nicht nur hinsichtlich der Energie und der Transformation des Gelatinestickstoffes in den Amidstickstoff, sondern auch rücksichtlich der Auflösung der Phosphorsäure aufweisen. Namentlich sind es die Mikroben: Bac. megatherium, Bac. mycoides und Bac. mesentericus vulgatus. Die durch Mikroben bewirkte intensive Transformation des Stickstoffes in Amidformen und die erhöhte Auflösung der Phosphorsäure muß im Boden merkliche Erscheinung rücksichtlich der lebenden Pflanzensubstanz herbeiführen.

Die folgenden, im Glashause ausgeführten Versuche zeigen nun, in welchem Grade der Einfluß der einzelnen Mikrobengattungen auf die Zersetzung des in den Boden gebrachten Knochenmehles und hierdurch auf die Pflanzenproduktion zu Tage tritt.

(Schluß folgt.)

Referate.

Reinitzer, Fr., Ueber die Eignung der Huminsubstanzen zur Ernährung von Pilzen. (Botanische Zeitung. Bd. LVIII. 1900. p. 59—73.

Reinitzer beschäftigt sich in dankenswerter Weise mit der experimentell überhaupt noch nicht bearbeiteten, aber gar zu häufig ohne weiteres bejahten Frage nach der Verwertbarkeit der Huminsubstanzen für Pilze. Unter dem Namen: Humusbestandteile des Bodens faßt man freilich vielfach eine große Menge durchaus heterogener organischer Stoffe zusammen, wie sie durch das stetige Absterben von Pflanzen und Tieren in den Boden gelangen. Verf. schlägt für die Gesamtheit der organischen Stoffe im Boden sehr passend den Ausdruck Mull als durchaus eindeutige Bezeichnung vor. Daß darunter viele, wie Cellulose und andere Kohlehydrate, organische Stickstoffverbindungen, ein mehr oder minder gutes Nährmaterial für saprophytische Organismen abgeben, ist ohne weiteres klar. Anders die eigentlichen braunen Huminsubstanzen, welche Hoppe-Seyler auf Grund seiner chemischen Studien für außerordentlich beständig, für fast unzerstörbar hält.

Verf. stellt seine Humusstoffe aus den verschiedensten Materialien dar, aus Garten-, Wald-, Heide- und Wiesenerde sowie aus Holzmoder. Dieselben wurden mit sehr verdünntem Ammoniak ausgelaugt; durch Eindampfen und Wiederauflösen wurde eine klare braune Lösung erhalten, aus der mit Salzsäure die Huminstoffe gefällt wurden. Nach Auswaschen des Niederschlags wurde er in Ammoniak gelöst und der Ueberschuß des letzteren auf dem Wasserbade verjagt. Der so erhaltene Humus, ockergelb aus Wiesenerde, sonst tief dunkelbraun, enthielt Stickstoff (Ammoniaksalz!) sowie genügend anorganische Elemente. Bei Luftinfektion wuchs auf allen so dargestellten Präparaten der gemeine Pinselschimmel. Als aber der ausgefällte Humus weiter zur Entfernung etwa beigemengter Kohlehydrate 1—2 Stunden am Rückflußkühler mit 5-proz. Salzsäure gekocht wurde, wuchs auf dem so gereinigten Humus nichts mehr, weder Penicillium, noch Botrytis, noch Agaricus fumosus, welche ausgesät wurden. Auch bei Infektion solcher Präparate mit natürlichem, pilzhaltigen Boden aus Wäldern sowie bei Luftinfektion blieb eine Pilzentwickelung aus, so daß der Schluß berechtigt ist, daß so gereinigte Humusstoffe untauglich zur Ernährung der gewöhnlich vorkommenden Pilze sind. Leider ist der Kontrollversuch: Aussaat der Pilze auf demselben, nur mit etwas Zucker versetzten Nährboden, nicht gemacht, wenigstens nicht erwähnt worden. Eine weitere Versuchsreihe, bei der eine 10-proz. Gelatine mit gereinigter Humuslösung bis zur Braunfärbung in dünner Schicht versetzt war, ohne daß dadurch die Entwickelung von Schimmelpilzen auf den Gelatineplatten gestört erschien, kann diesen Mangel nicht ganz ausgleichen.

Daß übrigens der reine Humus nicht durchaus unangreifbar ist für Penicillium, folgt aus dem Gedeihen des Pilzes auf einer Zuckerlösung, die als einzige Stickstoffquelle Kaliumhumat enthielt. Die stets stickstoffhaltigen Humussubstanzen des Bodens sind also nur als Kohlenstoffquelle unverwertbar, nicht aber als Stickstoffquelle. Diese Beobachtung verdient entschieden eine weitere Verfolgung, als ihr bei Reinitzer zu teil geworden ist.

Verf. benutzt seine Beobachtungen zu Spekulationen über die Rolle der Mykorhiza bei den phanerogamen Saprophyten. Auch für letztere dürften die stickstoffhaltigen Humussubstanzen nur als Stickstoffquelle von Bedeutung sein, während sie ihren Kohlenstoffbedarf aus anderen Bestandteilen des Mulls decken. Bei dem völligen Mangel an kritisch angestellten experimentellen Untersuchungen über die Bedeutung der zum Teil recht fragwürdigen Mykorhiza sind solche Spekulationen wohl etwas verfrüht. Behrens (Karlsruhe).

Albert, R. und **Buchner E.**, Hefepreßsaft und Fällungsmittel. (Ber. deutsch. chem. Gesellsch. Bd. XXXIII. 1900. No. 6. p. 971—975.)

Durch Eintragen von frischem Hefepreßsaft in ein Alkohol-Aether-Gemenge gelingt es, wie früher mitgeteilt, die festen Bestandteile in trockenen Zustand überzuführen ohne Einbuße an Gärkraft, d. h. ohne Verlust an wirksamer Zymase. Ein Abfiltrieren der in Wasser unlöslich gebliebenen Flöckchen durch Papier führte mitunter zu

nennenswerten Verlusten an Gärkraft, ein Ergebnis, das Verff. durch die Schwerlöslichkeit völlig getrockneter Zymase in Wasser zu erklären versuchten. In der That ist jetzt durch Zusatz von Glycerin, von Wittich's bekanntem Lösungsmittel für Enzyme erreicht, daß die Lösung des Alkohol-Aether-Niederschlages auch nach dem Filtrieren die frühere Gärkraft besitzt. Der fördernde Einfluß des Glycerinzusatzes beweist, daß es sich um Auflösung des wirksamen Stoffes handelt; würde nur eine Suspendierung von Protoplasmastückchen eintreten, so bleibt unverständlich, warum reines Wasser nicht ebenso günstig wirkt. Mit der Annahme von lebenden Protoplasmastückchen als Gärungsagens im Preßsaft ist übrigens auch die Unempfindlichkeit der wirksamen Substanz gegen Alkohol und gegen Aether unvereinbar; lebende Plasmasplitter müßten dadurch sogleich getötet werden. Zur experimentellen Prüfung dieser Verhältnisse wurden 100 g möglichst von Wasser durch Abpressen befreite frische untergärige Bierhefe mit 45 ccm Wasser angerührt und durch ein Haarsieb unter Benutzung eines Rührwerkes in 400 ccm absoluten Alkohol und 200 ccm Aether eingetragen. Nach 3 Minuten wurde abgesaugt, mit wenig Alkohol und Aether gewaschen und im Vacuum über Schwefelsäure getrocknet. Die so behandelte Hefe erwies sich als tot. Wird die Glycerinlösung der Alkohol-Aether-Fällung aus frischem Preßsaft abermals in Alkohol-Aether eingetropft, so resultiert ein Niederschlag von kaum verminderter Gärkraft; demnach ist zweimalige Fällung fast unschädlich für die Zymase; eine Anreicherung des Niederschlages an jenem Enzym findet dabei auch nicht statt, offenbar weil die Beimengungen ebenfalls mit niedergerissen werden.

Verff. machen ausführliche Mitteilungen über die Gärkraft der Alkohol-Aether-Fällungen unter Zusatz von Glycerin. Das Filtrat der Glycerinlösung ist meist sofort klar.

Die Höhe des Glycerinzusatzes ist ohne großen Einfluß. In allen Fällen, bei schwach gärkräftigem, wie bei gutem Preßsaft wurde durch Auflösen der Alkohol-Aether-Fällung in glycerinhaltigem Wasser auffallenderweise sogar etwas höhere Gärwirkung erzielt, als auf frischem Saft selbst. Man wird annehmen müssen, daß die proteolytischen, die Zymase zerstörenden Enzyme des Preßsaftes entweder durch die Behandlung mit Alkohol-Aether oder durch den Glycerinzusatz in ihrer schädlichen Wirkung gehemmt werden, wofür ein mitgeteilter Versuch spricht. Bei Preßsaft, welcher mit und ohne Zusatz von 10 Proz. Glycerin 20 Stunden bei Zimmertemperatur gestanden hatte, war die Kohlendioxydentwickelung innerhalb 68 Stunden im ersteren Falle eine bedeutend größere als im letzteren (0,70 g gegen 0,55 g).

H. Will (München).

Sturgis, W. C., Some common diseases of Melons. (22. Annual Report Connecticut Agric. Exp. Station. 1899.)

Verf. beschreibt eine Anzahl von Krankheitserscheinungen, welche im vergangenen Jahre im Staate Connecticut aufgetreten sind.

Zuerst bespricht er einige Melonenkrankheiten. Die erste wird durch Bacillus tracheiphilus verursacht und besteht in einem

Welken des Laubes; die zweite wird durch Altennaria brassicae var. nigrescens verursacht und wurde früher schon vom Verf. beschrieben. Die dritte Krankheit besteht in einem Braunwerden der Blätter. Durch erhöhte Transpiration wird der Pflanze mehr Wasser entzogen als sie aufnimmt, und es folgt darauf Vertrocknung der Blätter (eine ähnliche Krankheit ist von Stewart beschrieben, Ref.). Jede der 3 Krankheiten wird ausführlich beschrieben und Mittel zu deren Bestreitung werden angegeben. von Schrenk (St. Louis).

Bubak, Fr., Ueber Milben in Rübenwurzelkröpfen. (Zeitschrift für Zuckerrüben-Industrie in Böhmen. Jahrg. XXIV. 1900. p. 355.)

Die keineswegs seltene, vielmehr, namentlich in manchen Jahren und in mancher Gegend ziemlich verbreitete Erscheinung, daß sich an den Wurzeln der Zuckerrüben Auswüchse verschiedener Größe, von solcher einer wälschen Nuß bis zu der eines Kindskopfes, entwickeln, war schon Gegenstand einer Reihe von Abhandlungen, die sich mit der Art und Entstehung dieser Erscheinung befaßten und zu sehr verschiedenen Resultaten gelangten. Verf. hat nun in einem großen Wurzelkropf im Gewichte von beinahe 1 kg Milben gefunden, welche von Trouessart in Paris bestimmt und als Histiostoma Feroniarum (Duf.) erkannt wurden. Verf. denkt sich die Entstehung der Kröpfe in der Weise, daß das Weibchen die Eier entweder auf die Rüben oder in deren Nähe legt und daß die ausgeschlüpften Larven in die Wurzeln dringen, auf welchen sich sodann Kröpfe bilden, nachdem ja bekannt ist, daß die Larven von Insekten, welche Auswüchse hervorrufen, eine eigentümliche Substanz absondern, welche den Anstoß zur Kropfbildung giebt. Verf. hat noch eine große Anzahl von Kröpfen untersucht und in allen Kröpfen Milben gefunden. Ihre Menge hing stets von der Größe des Kropfes ab, hauptsächlich aber von seinem Alter oder von der Zeit, wo er sich zu entwickeln begann. Je später der Kropf auf der Wurzel hervorgerufen war, um so weniger Milben wurden gefunden. Festgestellt wurde ferner, daß die Milben nur in vollständig unversehrten Kröpfen leben; aus in Zersetzung begriffenen Kröpfen kriechen sie, durch die Feuchtigkeit herausgetrieben, nach außen, wo sie sich recht lebhaft bewegen. In der Wurzel, von welcher der Kropf herstammt, und in gesunden Rüben kommen die Milben nicht vor und in durch Mikroorganismen infizierten Kröpfen gehen sie zu Grunde. Daraus ließe sich wohl schließen, daß die Milben die Kröpfe verursachen, und wird diese Ansicht durch die eigentümliche Form des Kropfes unterstützt. Der Kropf ist nämlich kein einheitliches Gebilde, sondern setzt sich aus einer Menge Kröpfen von verschiedenen Größen zusammen, die zeitlich nach und nach entstanden sind. Da die Milben nur die Kropfmasse aufsuchen, so muß dieselbe gewisse besondere Eigenschaften haben, die den Tierchen besonders beliebt ist. Auf diese Weise ist die Entstehung neuer Kröpfchen auf den bereits gebildeten Kröpfen durch eine neue Invasion leicht zu erklären. Von verschiedenen Forschern ist festgestellt worden, daß der Zuckergehalt des Kropfes gegenüber demjenigen der zugehörigen Wurzel bedeutend kleiner

ist, und ist Verf. der Ansicht, daß diese Zuckerabnahme zum großen Teil den Milben zuzuschreiben ist, die vom Zucker im Kropf leben und zehren. Die chemischen Analysen anderer Forscher haben ferner ergeben, daß die Kröpfe reduzierende Substanzen (Invertzucker) enthalten. Die Entstehung dieser reduzierenden Substanzen kann nicht durch die Milben veranlaßt werden, da dieselben, sobald sich der Kropf zersetzt, aus demselben herauskriechen. Verf. ist daher der Ansicht, daß ein gesunder, eben aus der Erde herausgezogener Kropf keinen Invertzucker enthält, was allerdings erst noch durch die chemische Analyse festgestellt werden muß. Die Einwendung, daß die Mutterwurzel der Kröpfe von gesunden Rüben keinen Invertzucker enthält, kann dadurch widerlegt werden, daß die Kropfmaterie pathologischen Ursprunges ist und daß sie niemals so viel Energie hat, sich der Inversion von Mikroorganismen zu erwehren, wie die normale, lebendige und für das künftige Wachstum der Rübe so wichtige Wurzel.

Nach Strohmer und Stift enthalten die Kröpfe weit mehr stickstoffhaltige Substanzen als die mit ihnen zusammenhängenden Wurzeln und ob zwar dieser Mehrgehalt an Stickstoff in der Trockensubstanz der Wurzelkröpfe in dem Ausfalle der zerstörten Saccharose seine Erklärung findet, so dürfte derselbe vielleicht zum Teil auch auf Rechnung der mit dem Kropfe mit analysierten Milben zu setzen sein (? der Ref.). Schließlich sei noch hervorgehoben, daß die durch die Nematode Heterodera radicicola verursachten kleinen Auswüchse nicht mit der vorliegenden Erscheinung verwechselt werden dürfen. Stift (Wien).

Entwickelungshemmung und Vernichtung der Bakterien etc.

Backhaus und **Appel, O.,** Ueber aseptische Milchgewinnung. (Heft 2 und 5 der Berichte des landwirtsch. Instituts der Univ. Königsberg in Pr.) [Sonderabdruck.]

In dem ersten Teil wird eine Anzahl Litteraturnotizen über den Keimgehalt der Milch und die Resultate eigener Versuche über den Bakteriengehalt der Kuhmilch bei verschiedenen Arten der Gewinnung niedergelegt. Es wird nachgewiesen, welch bedeutende Unterschiede in dem Keimgehalte zwischen der gewöhnlichen Marktmilch und einer mit besonderer, in der Praxis aber sehr wohl durchführbarer Sorgfalt gewonnenen Milch bestehen.

Der zweite Teil enthält zunächst die Ergebnisse fortlaufender Untersuchungen, die an der Milch der aus 8 Kühen bestehenden Versuchstierhaltung des Königsberger landwirtschaftlichen Instituts $1^1/_2$ Jahre lang nach täglichen Entnahmen vorgenommen wurden. Eine Reihe von Keimbestimmungen erbringt zahlenmäßige Beweise dafür, daß der Bakteriengehalt der zum Konsum kommenden Kuhmilch außerordentlich variiert, daß es aber durch Beachtung aller Momente, wie Auswahl der Milchtiere, Fütterung, Körperpflege, sach-

gemäßes Melken, zweckentsprechende Stalleinrichtungen und Gebrauch passender Geräte, möglich ist, eine relativ keimarme Milch zu erzielen. Im einzelnen ergeben sich auch dann noch Schwankungen, die auf Mängel in der Milchgewinnung zurückzuführen sind. Namentlich ist es interessant, wie die Morgenmilch im allgemeinen keimreicher ist, als die Mittags- und Abendmilch. Es ist dies darin begründet, daß die Stallreinlichkeit, Körperpflege und Sorgfalt beim Melken morgens nicht so gut möglich ist, als bei den übrigen Melkzeiten. Interessant ist ferner die Beobachtung, daß, als in der letzten Zeit dem Viehwärter eine Gratifikation bei einem Keimgehalt unter 10 000 im ccm zugesagt wurde, sich gegenüber früher die Keimzahl wesentlich verringerte. Der Keimgehalt im Sommer ist fast 3mal so hoch als im Winter (6250 : 17 120). Diesen sehr befriedigenden Befunden gegenüber steht die Keimzahl der auf den Markt gebrachten (also wesentlich später untersuchten) Kuhmilch mit durchschnittlich 4 258 000 Keimen auf Grund von 226 Untersuchungen; sie schwankt überhaupt von 25 000 bis 49 020 000 im ccm. Durch einen einfachen Apparat, der es ermöglichte, die Milch direkt in Glasflaschen zu melken, konnten die Verff. den Keimgehalt bis auf 2700 erniedrigen, gegenüber dem fast 6mal so hohen der gleichzeitig durch gewöhnliches Melken gewonnenen Mischmilch (15 800). Von Einwirkung ist ferner das Material der Milchgefäße: Milch in Holzkannen hat sofort nach dem Einfüllen mehr, nach längerem Stehen aber (9 Stunden) vermutlich infolge des Tanningehalts des frischen Eichenholzes weniger Keime, als Milch in Blechkannen. Bei Grünfütterung ist ein höherer Keimgehalt wahrzunehmen, als bei Trockenfütterung; bei Verwendung von Melkröhrchen ein höherer als bei einfachem Ausmelken; auch bei Torfstreu steigt er. Während des Melkens macht sich eine Abnahme des Keimgehaltes vom Anfang zum Schlusse bemerkbar; bei einigen Tieren wurde zuletzt eine völlig sterile Milch gewonnen.

Für die Erklärung des Keimgehaltes der unter allen aseptischen Versuchsmaßregeln gewonnenen Milch liegt die Annahme nahe, daß Bakterien von außen in den Zitzenkanal eindringen und in den Milchcisternen sich vermehren. Dem widersprechen aber 2 Untersuchungen der Verff., wonach durch längere Zwischenmelkzeiten keine wesentliche Erhöhung des Keimgehaltes oder Veränderung der Säure eintrat, verschiedene Impfversuche, wonach bei einer Infektion mit Milchbakterien die Milchdrüse durch Abscheidung stark alkalischer Sekretion bestrebt ist, die eingeführten Bakterien zu töten. In der That werden hierdurch und durch öfteres Ausmelken auch die entstandene Entzündung und die als Folgeerscheinung aufgetretenen Veränderungen der Milch beseitigt.

A. hat sich dann noch der Aufgabe unterzogen, zu erforschen ob auch hinsichtlich der Häufigkeit einzelner Arten von Organismen bei verschiedenartiger Gewinnung der Milch ein Unterschied bestehe, und weiter, ob es vielleicht gelänge, besonders ungünstig wirkende Arten auszuschalten. Zu den letzteren gehören, außer den spezifischen Krankheitserregern diejenigen Keime, welche hohe Temperaturen längere Zeit auszuhalten imstande sind, z. B. Bac. subtilis, mesentericus und thyrothrix, ferner manche Kokken. A. wies

nun nach, daß die eigentliche Fundgrube der ersteren hauptsächlich der Boden und die Oberfläche der Pflanzen (Futter und Streu), diejenige der Kokken der Haarboden der Kühe und die Luft ist. Durch diese Thatsachen lassen sich nicht nur alle obengenannten Schwankungen des Keimgehaltes erklären, sondern ist auch der Weg gewiesen, die richtigen Maßregeln zur aseptischen Milchgewinnung zu treffen. Dann ist es aber auch — und Verff. haben es praktisch bewiesen — sehr wohl möglich, eine Infektion der Milch durch sporentragende Organismen nahezu auszuschließen; für die sich anschließende Sterilisierung der Milch ist dann eine wesentliche Erleichterung geschaffen.

Bei gut gehaltenen Kühen treten verhältnismäßig wenige Arten in den Ausführungsgängen des Euters auf. Diese Arten sind häufig längere Zeit konstant. Als typische und fast immer vorherrschende Bewohner der Milchausführunsgänge treten dabei die Bakterien der Milchsäuerung, besonders Bact. Güntheri in den Vordergrund; dieses wurde in 88 Proz. und zu jeder Jahreszeit angetroffen. Eine Beschreibung desselben und einer Reihe anderer isolierter und studierter Organismen schließt die Arbeit, die das Ergebnis jahrelanger, fleißiger Untersuchungen ist. Mühlschlegel (Stuttgart).

Altum, B., Durch wilde Kaninchen angerichtete Schäden und gegen sie anzuwendende Maßregeln. (Zeitschr. f. Forst- und Jagdwesen, her. v. Danckelmann. Jahrg. XXXII. 1900. p. 131—147.)

Diese letzte Abhandlung des verewigten Altum wurde durch eine Aufforderung des preußischen Ministeriums zur Abwehr gegen die sich mehrende Kaninchenplage veranlaßt und enthält in mehreren Kapiteln das Wichtigste über die von dem Nager verursachten wirtschaftlichen Schäden und die Hilfsmaßregeln dagegen. Von jenen macht sich zunächst geltend die Zerstörung des Geländes durch die Baue, wodurch die Kaninchen besonders dem Dünenbau nachteilig werden. Indem sie der Thätigkeit des Windes vorarbeiten und unaufhörlich die den Sand festhaltenden Dünengräser abschneiden, vereiteln sie oft gänzlich die mühsame und kostspielige Dünenkultur. Auf den großen Truppenübungsplätzen sind die Bauten für die berittenen Waffen ein lästiges und oft gefährliches Hindernis. Infolge des Unterminierens geht eine Menge Bäume in älteren Nadelholzschonungen zu Grunde. Die forstlichen Beschädigungen umfasssn Schälen und Verbeißen der Holzpflanzen und Zerstören von Saat- und Kleinpflanzen. Das Kaninchen schält weit stärker als der Hase, während es im Verbeißen von diesem weit übertroffen wird. Schädlich wird es auch durch die Anlage von „Spielplätzen“ in Weidenhegern und im Forst. Unter den landwirtschaftlichen Beschädigungen nimmt wohl das Abnagen der Pflanzen stets die erste Stelle ein, dann aber veranlassen die vielfach in den Feldern angelegten Notbaue, daß die herausgescharrte Erde den Boden zu etwa zwölf Quadratmeter Fläche meist so stark bedeckt, daß die Getreidepflänzchen darunter ersticken. Jagdschädlich wird das Kaninchen endlich, indem es durch seine massenhafte An-

siedlung und sein unruhiges Wesen die Hasen aus dem Walde verscheucht.

Was die Vertilgungsmittel anlangt, so hat sich die an die Freigabe für den freien Tierfang in der gesamten preußischen Monarchie geknüpfte Erwartung nicht erfüllt, daß den wilden Kaninchen in größerem Umfange als bisher nachgestellt werden würde. Doch sind andere Mittel bei richtiger Anwendung sehr wirksam, wofür Bedingungen möglichst frühzeitiges Einsetzen im Frühjahr und thunlichste Entfaltung aller Energie, besonders nach harten Wintern, sind. Ein durchschlagendes Mittel ist nach Max v. d. Borne das Legen von Tellereisen, wodurch in Berneuchen in zehn Monaten mit höchstens 60 Eisen 3008 der schädlichen Nager vernichtet wurden. Der Abschuß hat vor dem Fangen und dem Frettieren den Vorzug, daß nicht auch andere Arten, vielleicht gar zur Schonzeit, mit vernichtet werden. Als Vorbeugungsmittel sind Anstreichen der Rinden mit schwedischem Holzteer und, wo angängig, Ziehen von Drahtzäunen zu empfehlen. Arnold Jacobi (Berlin).

Corrigendum.

In Abt. II. Bd. VI. p. 87. Zeile 8 von oben ist statt „und ist von uns Italics benannt" zu lesen: und ist von uns Galaktase benannt.

Neue Litteratur,

zusammengestellt von

San.-Rat Dr. Arthur Würzburg,

Bibliothekar im Kaiserl. Gesundheitsamte in Berlin.

Untersuchungsmethoden, Instrumente u. s. w.

Johnson, W. G., The Emory fumigator; a new method for handling hydrocyanic acid gas in orchards. (Proceed. of the 11. annual meet. of the assoc. of economic entomol. U. S. Departm. of Agricult., Divis. of entomol. N. S. Bullet. No. 20. Washington 1899. p. 43—53.)

Klebahn, H., Kulturversuche mit Rostpilzen. VIII. Bericht (1899). (Jahrb. f. wissenschaftl. Botanik. 1900. Heft 3. p. 347—404.)

Systematik, Morphologie und Biologie.

Albert, R., Hefepreßsaft und Fällungsmittel. II. (Wchschr. f. Brauerei. 1900. No. 14. p. 189—190.)

Coquillet, D. W., Description of a new parasitic Tachinid fly (Exorista heterusiae n. sp.). (Ind. mus. notes. Vol. IV. 1899. No. 5. p. 179.)

Howard, L. O. and Marlatt, C. L., The original home of the San Jose scale. (Proceed. of the 11. annual meet. of the assoc. of economic entomol. U. S. Departm. of Agricult., Divis. of entomol. N. S. Bullet. No. 20. Washington 1899. p. 36—39.)

Marlatt, C. L., An account of Aspidiotus ostreaeformis. (Proceed. of the 11. annual meet. of the assoc. of economic entomol. U. S. Departm. of Agricult., Divis. of entomol. N. S. Bullet. No. 20. Washington 1899. p. 76—82.)

Nassonow, N., Zur Kenntnis der phagocytären Organe bei den parasitischen Nematoden. (Arch. f. mikrosk. Anat. Bd. LV. 1900. Heft 4. p. 488—513.)

Saunders, J., Mycetozoa of the South Midlands. (Journ. of botany British and foreign. 1900. No. 447. p. 83—86.)

Scott, W. M., Fatal temperature for some coccids in Georgia. (Proceed. of the 11. annual meet. of the assoc. of economic entomol. U. S. Departm. of Agricult., Divis. of entomol. N. S. Bullet. No. 20. Washington 1899. p. 82—85.)

Beziehungen der Bakterien und Parasiten zur unbelebten Natur.

Nahrungs- und Genußmittel, Gebrauchsgegenstände.

Bier, Brauerei.

Will, H., Eine Mycoderma-Art und deren Einfluß auf Bier. [II. Mitteilung.] (Ztschr. f. d. ges. Brauwesen. 1900. No. 13—17. p. 185—190, 197—201, 209—216, 225—230, 237—241.)

Wohnungen, Abfallstoffe etc.

Hoffmann, M., Stallmist-Konservierungsversuche. (Dtsche landwirtschaftl. Presse. 1900. No. 29. p. 354—355.)

Beziehungen der Bakterien und Parasiten zu Pflanzen.

Harmlose Bakterien und Parasiten.

Stoklasa, J., Ueber neue Probleme der Bodenimpfung. (Ztschr. f. d. landwirtschaftl. Versuchswesen in Oesterreich. 1900. Heft 4. p. 440—446.)

Krankheitserregende Bakterien und Parasiten.

Behrens, J., Zur Bekämpfung des Oïdiums (Aescherig). (Wchbl. d. landwirtschaftl. Ver. im Großherzogt. Baden. 1900. No. 11. p. 144—145.)

Bouillot, C., Le blackroot; les maladies cryptogamiques et les orages. (Semaine hortic. 1900. p. 47—48.)

Delacroix, G., La graisse, maladie bactérienne des haricots. (Moniteur horticult. belge. 1900. p. 26—27.)

Eckstein, K., Infektionsversuche und sonstige biologische Beobachtungen an Nonnenraupen. (Ztschr. f. Forst- u. Jagdwesen. 1900. Heft 5. p. 262—266.)

Ewert, Der Kampf gegen die Gartennonne, Oeneria dispar. (Proskauer Obstbau-Ztg. 1900. No. 5. p. 72—74.)

Felt, E. P., Notes of the year for New York [Forest tent-caterpillar. Elm leaf-beetle. Asparagus beetles. Seventeen-year cicada]. (Proceed. of the 11. annual meet. of the assoc. of economic entomol. U. S. Departm. of Agricult., Divis. of entomol. N. S. Bullet. No. 20. Washington 1899. p. 60—62.)

Grandeau, L., Expériences nouvelles sur la destruction des sanves. (Journ. d'agricult. prat. 1900. No. 15. p. 525—527.)

Grégoire, A., La dépression des récoltes due à la rouille. (Bullet. de l'agricult. 1899. p. 643—644.)

Johnson, W. G., The stalk worm; a new enemy to young tobacco. (Proceed. of the 11. annual meet. of the assoc. of economic entomol. U. S. Departm. of Agricult., Divis. of entomol. N. S. Bullet. No. 20. Washington 1899. p. 99—102.)

Jouvet, F., Le black-rot dans le Jura en 1899. (Vigne améric. 1900 No. 5. p. 146—149.)

Kirkland, A. H., A probable remedy for the cranberry fireworm. (Proceed. of the 11. annual meet. of the assoc. of economic entomol. U. S. Departm. of Agricult., Divis. of entomol. N. S. Bullet. No. 20. Washington 1899. p. 53—55.)

Letacq, A. L., Le Gui de chêne. (Bullet. de l'assoc. franç. de botan. Année III. 1900. No. 27. p. 71—72.)

Mangin, L., Sur la maladie vermiculaire du seigle. (Journ. d'agricult. prat. 1900. No. 20. p. 707—708.)

Massa, Le chancre des arbres fruitiers. (Belgique hortic. et agric. 1900. p. 39—41.)

Potter, M. C., A new phoma disease of the Swede. (Journ. of the Board of Agricult. Vol. VI. 1900. No. 4. p. 448—456.)

Report of the inspector of fumigation appliances 1899. gr. 8°. 15 p. Toronto 1900.

Rodigas, E., Puceron lanigère. (Bullet. d'arboricult. et de floricult. potagère. 1900. p. 18.)

Sabatier, J., Traitement préventif du charbon de l'avoine. (Journ. d'agricult. prat. 1899. No. 18. p. 634—635.)
Schlegel, H., Beobachtungen aus der Praxis über den Einfluß der Winter auf die Pilzkrankheiten des Weinstockes. (Weinbau u. Weinhandel. 1900. No. 13. p. 117—118.)
Seurat, L. G., Moeurs de deux parasites des chenilles de l'Agrotis segetum. (Bullet. d. mus. de l'hist. natur. T. V. 1899. No. 3. p. 140.)
Simonet, F., Fabrication du remède Garanger contre l'oïdium de l'Othello. (Vigne améric. 1900. No. 5. p. 145—146.)
Staes, G., De krulziekte der perzikbladen en hare bestrijding. (Tijdschr. over plantenziekten. 1899. Aflev. 3/4. p. 135—138.)
— —, Over de roode rotting van de spar. (Ibid. Aflev. 5/6. p. 183—192.)
Steglich, Der Traubenschimmel der Reben und seine Bekämpfung. (Sächs. landwirtsch. Ztschr. 1900. No. 18. p. 193—195.)
Stewart, F. C., Notes on various plant diseases. (New York agricult. experim. stat., Geneva, N. Y. 1899. Bullet. No. 164. p. 207—221.)
d'Utra, G., A fumagina ou morphéa das laranjeiras. (Bolet. do Instit. agronom. do Estado de São Paulo em Campinas. 1899. No. 9/10. p. 604—610.)
Walsingham, A gall-making coleophora (Stefanii de Joannis). (Entomol. monthly magaz. 1900. March. p. 59—60.)
Webster, F. M., An interesting outbreak of chinch bug in Northern Ohio. (Proceed. of the 11. annual meet. of the assoc. of economic entomol. U. S. Departm. of Agricult., Divis. of entomol. N. S. Bullet. No. 20. Washington 1900. p. 55—56.)
Webster, F. M. and **Mally, C. W.**, Insects of the year in Ohio. (Proceed. of the 11. annual meet. of the assoc. of economic entomol. U. S. Departm. of Agricult., Divis. of Entomol. N. S. Bullet. No. 20. Washington 1899. p. 68—73.)
zu Putlitz, Zur allgemeinen Vernichtung des Birnenrostes. (Dtsche landwirtschaftl. Presse. 1900 No. 39. p. 483.)

Entwickelungshemmung und Vernichtung der Bakterien.

Nefsler, J., Die Heufelder Kupfersoda und die Verwendung größerer und kleinerer Mengen Kupfervitriol bei dem Bekämpfen der Blattfallkrankheit. (Wchbl. d. landwirtschaftl. Ver. im Großherzogt. Baden. 1900. No. 11. p. 145—146.)

Inhalt.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.

CENTRALBLATT

für

Bakteriologie, Parasitenkunde u. Infektionskrankheiten.

Zweite Abteilung:

Allgemeine, landwirtschaftlich-technologische Bakteriologie, Gärungsphysiologie, Pflanzenpathologie und Pflanzenschutz.

In Verbindung mit

Prof. Dr. **Adametz** in Wien, Prof. Dr. **J. Behrens** in Karlsruhe i. B., Prof. Dr. **M. W. Beijerinck** in Delft, Geh. Regierungsrat Prof. Dr. **A. B. Frank** in Berlin, Dr. **v. Freudenreich** in Bern, Privatdocent Dr. **Lindau** in Berlin, Prof. Dr. **Lindner** in Berlin, Dr. **Morris**, Chef des Hansen-Laboratory, Jenner-Institute of Preventive Medicine in London, Prof. Dr. **Müller-Thurgau** in Wädensweil, Dr. **Erwin F. Smith** in Washington, D. C., U. S. A., Prof. Dr. **Stutzer** in Breslau, Prof. Dr. **Wehmer** in Hannover, Prof. Dr. **Weigmann** in Kiel und Prof. Dr. **Winogradsky** in St. Petersburg

herausgegeben von

Dr. O. Uhlworm in Cassel

und

Prof. Dr. Emil Christian Hansen in Kopenhagen.

Verlag von Gustav Fischer in Jena.

VI. Bd. **Jena**, den 22. September 1900. **No. 17.**

Jährlich erscheinen 26 Nummern. Preis für den Band (Jahrgang) 20 Mark. Preis für eine einfache Nummer 75 Pfg., für eine Doppelnummer 1 Mark 50 Pfg. Nummern mit Tafeln kosten für jede Tafel 50 Pfg. mehr.

Hierzu als regelmäfsige Beilage die Inhaltsübersichten der I. Abteilung des Centralblattes.

Wünsche wegen Lieferung von besonderen Abdrücken wollen die Herren Mitarbeiter auf die Manuskripte schreiben oder bei Rücksendung der ersten Korrekturabzüge der Verlagsbuchhandlung mitteilen.

Original-Mitteilungen.

Ueber das Auftreten und Verschwinden des Glykogens in der Hefezelle.

[Arbeiten der pflanzenphysiologischen Versuchsstation zu Geisenheim am Rhein.]

Von **Richard Meissner**-Dessau.

(Schluß.)

Das bisher geschilderte Auftreten des Glykogens in den Hefezellen findet nun aber in der gleichen Weise auch bei Hefen statt,

die sich bei der Umgärung von Wein in demselben vermehren und in den gärenden Zustand übergehen. Um nach dieser Richtung hin orientiert zu sein, wurde ein 1899er Steinberger Wein umgegoren. Derselbe enthielt, wie die nach dem Zuckerzusatz und der Sterilisation vorgenommene Untersuchung ergab, 10,61 Vol.-Proz. Alkohol. Es waren die entsprechenden Zuckermengen (2 Proz.) in Gestalt von Rohrzucker zum Wein gegeben. Der Wein ($1^1/_2$ Liter) wurde mit einer Oese voll einer reingezüchteten Champagne-Ay-Hefe, wie solche in den deutschen Schaumweinkellereien vielfach Verwendung findet, geimpft (13. Februar 1900). Die Hefe entwickelte sich trotz der 10,61 Vol-Proz. Alkohol recht gut, wenn auch infolge des hohen Alkoholgehaltes des Weines langsam. Die Hefe war zunächst in den sprossenden und dann in den gärenden Zustand übergegangen. Sie zeigte in beiden Zuständen reichlichen Glykogengehalt.

Um zu entscheiden, wann der Maximalgehalt an Glykogen in den Hefezellen eintritt, wurde von Gontscharuk, einem früheren Praktikanten der Versuchsstation, folgender Versuch angestellt:

1 l konzentrierter Sicilianer Most wurde mit 3,4 l Gau-Algesheimer Most und 4,6 l Wasser vermischt. Die Mischung zeigte einen Zuckergehalt von 18,7 Proz. Von diesem Moste wurden nach seiner Schönung und Filtration je $2^1/_2$ l in 3 Gärflaschen gebracht, die Flaschen mit einem Gärspund versehen, und dann $^1/_4$ Stunde lang bei 100° C im strömenden Dampf sterilisiert. Nach dem Erkalten des Mostes wurde derselbe mit je eine Oese einer Bordeauxhefe geimpft, die Flaschen mit den Gärspunden wieder verschlossen und endlich die Korkstopfen, durch welche die Ansatzröhren der Gärspunde gingen, durch Ueberstreichen mit Flaschenwachs luftdicht gemacht.

Selbstverständlich konnte der Zeitpunkt, an welchem die Hefezellen den Maximalgehalt an Glykogen zeigten, nicht nach den Tagen bestimmt werden, die seit dem Einimpfen der Hefen in den Most verflossen waren. Denn bei Optimaltemperaturen z. B. ist die Entwickelung der Hefen eine bedeutend schnellere als bei niederen Temperaturen, ebenso wie sich die Hefe bei Abwesenheit von Licht schneller vermehrt als in direktem Sonnenlichte. Es schien demnach das beste zu sein, den Zeitpunkt, wann die Hefezellen den Maximalgehalt an Glykogen besitzen, nach der Menge des seitens der Hefen gebildeten Alkohols zu bestimmen.

Es wurden darum die 3 hergerichteten Gärflaschen täglich gewogen, um an dem täglichen Gewichtsverlust den Gang der Gärung zu erkennen. Die Flaschen wurden täglich ein bezw. zu öfteren Malen geöffnet, um jedesmal einen Tropfen Most zur mikroskopischen Untersuchung der Hefen entnehmen zu können. Zu der Zeit, da die Hefen mit Jodlösung die stärkste Braunfärbung ergaben, wurde eine größere Menge gärenden Mostes mittels steriler Pipetten entnommen, und der Alkoholgehalt bestimmt.

Gontscharuk kam zu dem Resultate, daß in dem gegebenen Falle die Hefezellen am reichlichsten Glykogen aufgespeichert hatten, als der Wein 5,45—5,76 Gewichts-Proz. Alkohol enthielt, d. h. am Schlusse der Hauptgärung. Selbstverständlich ist den angegebenen

Zahlen nicht eine allgemein giltige Bedeutung beizulegen. Denn die Hauptgärung eines Weines braucht nicht gerade bei einem Gehalt desselben an 5,45 Proz. Alkohol vollendet zu sein. Das richtet sich nach der chemischen Zusammensetzung des Mostes, speziell nach dem Zuckergehalt desselben. Immerhin bestätigten die Untersuchungen *Gontscharuk's* die Angaben *Will's* und *Lindner's*, nach denen auch „am Schluß der Hauptgärung die Hefe reich an Glykogen" ist.

Nachdem aber die Hauptgärung vorüber ist und der Wein still zu werden beginnt, läßt sich mikrochemisch eine Abnahme des Glykogengehaltes in den Hefezellen nachweisen. Wie bereits im Jahre 1892 *Wortmann* vermutete und jüngst durch die Versuche *Gontscharuk's* nachgewiesen wurde, wie sich ferner auch aus anderen Untersuchungen ergab, *tritt aber die Abnahme des Glykogens in den Hefezellen mikrochemisch nachweisbar bereits zu einer Zeit ein, zu welcher noch geringe Mengen Zucker in der gärenden Flüssigkeit vorhanden sind, woraus hervorgeht, daß die beiden Prozesse, Vergärung des Zuckers in der gärenden Flüssigkeit und das Verschwinden eines Teiles des Glykogens innerhalb der Hefezelle, nebeneinander verlaufen.* Nach *Gontscharuk* beginnt nachweisbar die Abnahme des Glykogens, wenn der Wein noch 0,3 Proz. unvergorenen Zucker enthält, nach anderen Versuchen jedoch schon viel zeitiger, wenn noch etwa 0,5—1 Proz. unvergorener Zucker im Weine vorhanden sind. Auch die hier gegebenen Zahlen werden für jeden Most andere sein. Bei sehr zuckerreichen Mosten z. B. wird das Glykogen bereits zu schwinden beginnen, wenn, wie *Wortmann* sagt, „die Hefe durch die Alkoholwirkung so geschwächt ist, daß keine Verarbeitung des Zuckers mehr stattfinden kann". In diesem Falle wird sich die Abnahme des Glykogens bei relativ hohem Zuckergehalte des Weines nachweisen lassen.

Hervorgehoben sei an dieser Stelle auch, daß bereits während der Hauptgärung, also wenn die gärende Flüssigkeit unter Umständen noch verhältnismäßig viel Zucker enthält, einige Zellen in den Ruhestand übergehen und auch dann schon Glykogenabnahme zeigen. Der Uebergang der Zellen in den Ruhezustand läßt sich ohne Reaktion mit Jod an der körnigen Struktur des Zellinneren und dem Kleinerwerden der Zellen unschwer erkennen. *Will* hält diese Zellen für *tote* Zellen, weil es diejenigen sind, welche sich bei Jodzusatz sofort intensiv rotbraun färben. Ohne Zweifel wird ein Teil der Zellen abgestorben sein, ein anderer wird sich aber im Ruhezustande befinden. Gerade in diesem letzteren Zustande ist das Plasma, wie aus späteren Beobachtungen hervorgeht, wenig widerstandsfähig gegen Jodlösung.

Die einzelnen Heferassen lassen das Glykogen verschieden schnell aus den Zellen schwinden. Während z. B. die Zellen der „Steinberg 1893"-Hefe bereits stark in Ruhe sind und auf Jodzusatz nur noch eine leichte Bräunung geben, zeigen andere Rassen noch starken Glykogengehalt, obwohl die verschiedenen Heferassen unter denselben

Bedingungen sich entwickelt haben und in allen Fällen der Wein, in dem sich die Hefen abgesetzt haben, beim Schütteln ruhig ist.

Häufig wurden auch Sproßverbände beobachtet, während der größte Teil der Zellen sich in Ruhe befand. Das Auftreten der Sproßverbände möchte ich dem Umstande zuschreiben, daß, nachdem sämtlicher Zucker aus dem Weine verschwunden ist, dennoch eine geringe Vermehrung der Hefen stattfinden kann, vorausgesetzt, daß der Alkoholgehalt des Weines nicht ein zu hoher ist, und zwar auf Kosten der im Weine vorhandenen organischen Säuren. Denn Schukow[1]) hat dargethan, daß in einer künstlichen Nährlösung, die neben Ammoniumphosphat, Kaliumphosphat, Magnesiumsulfat und Brunnenwasser nur noch organische Säuren in Gestalt von Weinsäure, Aepfelsäure und Citronensäure enthielt, in der also kein Zucker vorhanden war, dennoch eine Vermehrung der Hefe stattgefunden hatte, infolge deren auch ein Teil der Säuren verbraucht wurde.

Die Hefezellen der Sproßverbände in hungernden Trubs zeigen auf Jodzusatz meist reichen Glykogengehalt, so daß es fast den Anschein hat, als ob die Hefe auch aus organischen Säuren Glykogen zu bilden imstande ist. Auch Schukow hat bei der mikroskopischen Untersuchung seiner Versuchshefen unter den alten, in den Ruhestand übergegangenen Zellen immer Kolonieen von jungen, sprossenden Hefen gefunden. Er schreibt hierüber: „Obwohl ich noch nicht bestimmt darüber entscheiden kann, habe ich doch den Eindruck erhalten, als ob die Anzahl von diesen jungen Kolonieen mit den Ernährungsbedingungen einerseits und mit der Art der vorhandenen Säure andererseits sich änderte, derart, daß um so zahlreichere junge Kolonieen zu finden waren, je bessere Ernährungsbedingungen vorhanden waren und daß bei Citronen- und Aepfelsäure eine größere Anzahl von diesen Kolonieen als bei Wein- und Bernsteinsäure vorhanden waren [2]).“

Daß selbst in alten, stark hungernden Trubs immer noch lebende oder tote Zellen mit Glykogengehalt angetroffen werden, zeigt folgende, am 21. Februar 1900 angestellte mikroskopische Untersuchung:

Heferasse Schloß Vollrads.

Die Kultur stammt vom 19. September 1899. Die Zellen befinden sich stark im Ruhestande. Mit Jod zeigt etwa $^1/_4$ der Zellen zum Teil noch recht starken Glykogengehalt.

Heferasse Kempter Berg.

Kultur vom 3. Oktober 1899. Etwa die Hälfte der Zellen zeigt zum Teil noch starke Glykogenreaktion.

Heferasse Bingen Scharlachberg.

Kultur vom 4. Oktober 1899. Man findet noch Zellen, die wie Zellen im gärenden Zustande aussehen. Mit Jod wird etwa $^1/_4$ der Zellen braun gefärbt.

Ein gleiches Verhalten wie die zuletzt angeführte Heferasse zeigen auch die Rassen:

1) Schukow, J., Ueber den Säureverbrauch der Hefen. (Centralbl. f. Bakt. etc. 2. Abt. 1896. No. 19. p. 607—608.)

2) Schukow, l. c. p. 612.

Heimersheimer Ruth (Kultur vom 13. Sept. 1899)
Würzburg Stein (Kultur vom 5. Okt. 1899)
Bernkastel Doktor (Kultur vom 17. Okt. 1899)
Gaubickelheimer Goldberg (Kultur vom 13. Okt. 1899).

Die Rasse Wiltingen (Kultur vom 2. Nov. 1899) zeigte in etwa $^1/_8$ der Zellen auf Jodzusatz noch Glykogen.

Diese letzteren Befunde haben, wie überhaupt die Frage nach dem Verschwinden des Glykogens aus der Hefezelle ihre praktische Bedeutung und sind zu berücksichtigen bei einer Zeitbestimmung des ersten Abstiches der Weine auf Grund der mikroskopischen Kontrolle [1]), insofern man nicht den Zeitpunkt abwartet, bis aus sämtlichen Hefezellen das Glykogen verschwunden ist. Würde man so lange mit dem Abstich der Weine warten, so würde man zu spät Wein und Hefe trennen. Der Wein würde infolgedessen alle jene Fehler erhalten, welche die Folgen eines zu spät vorgenommenen Abstiches sind. Andererseits bildet das Verschwinden des Glykogens aus der Hefezelle eines von den Momenten für eine wissenschaftliche Grundlage, nach welcher die Zeit des ersten Abstiches zu bestimmen wäre. Diese Grundlage kann eben nur gewonnen werden „durch eingehende Beobachtungen über die Lebenszustände der Hefe, besonders über die einzelnen physiologischen Prozesse der Hefe, welche dieselbe auch nach Beendigung der alkoholischen Gärung im Weine noch unterhält [2])."

Wenn man in hungernden Trubs noch Hefen im gärenden Zustande findet und die einzelnen Hefezellen auf ihren Glykogengehalt mittels Jodlösung prüft, so macht man die Beobachtung, daß die ruhenden Zellen fast momentan die Glykogenreaktion ergeben, während es bei den Hefezellen im gärenden Zustande längere Zeit dauert, bis die Rotbraunfärbung eintritt, vorausgesetzt, daß man stark verdünnte Jodlösung anwendet. Die ruhenden Zellen sind aber keineswegs sämtlich tot, wie man nach den Beobachtungen Will's schließen sollte, sondern die meisten der ruhenden Zellen sprossen, in frischen Most übergeimpft, sehr bald wieder. Ich neige deshalb zu der Ansicht, daß das Hautplasma solch stark hungernder Hefezellen gegen Jodlösung nicht so widerstandsfähig ist, wie etwa das Hautplasma sprossender oder gärender Hefezellen.

Daß jedoch eine äußerst lebenskräftig aussehende, stark glykogenhaltige Hefe thatsächlich tot sein kann, wie es Will gefunden hat, geht aus folgendem Versuche hervor:

Gut ernährte, glykogenhaltige, dickbreiige Champagnehefe wurde auf sterilisierten Rohrzucker gegeben und dann hiervon von Zeit zu Zeit eine Probe in frischen Most geimpft, um die Lebensdauer der Hefe zu konstatieren. In den ersten Tagen wurde der Most durch die auf dem Rohrzucker verteilte Hefe in Gärung versetzt. Allmählich starben jedoch die Hefezellen ab, obwohl sie stark glykogenhaltig waren.

---

1) Vergl. hierüber die Ausführungen Wortmann's in dem Jahresberichte der kgl. Lehranstalt für Obst- und Weinbau zu Geisenheim a. Rb. 1898/99. p. 70 u. 71.
2) Wortmann, Jahresber. 1898/99. p. 70.

Die Erscheinung ist dadurch zu erklären, daß, sobald die dickbreiige Hefe auf den Zucker gegeben wird, ein Teil desselben durch die der Hefe anhaftende Flüssigkeit in Lösung übergeht. Es entsteht auf diese Weise schließlich eine hochkonzentrierte Rohrzuckerlösung, die ihrerseits plasmolysierend auf die Zellen wirkt. Wird die plasmolysierte Hefe in frischen Most übertragen, so wird der Turgor der Zelle wieder hergestellt, die Zelle kann wachsen, sich vermehren und Gärung im Moste erzeugen. Hält dagegen der Zustand der Plasmolyse zu lange an, so stirbt die Zelle allmählich ab, das Glykogen verschwindet aber nicht aus ihr.

Merkwürdig bleibt die Erscheinung immerhin, namentlich im Hinblick auf einen Versuch Lintner's[1]), durch den konstatiert wurde, daß trotz eingetretener Plasmolyse der Hefezellen das Glykogen aus den Zellen verschwindet. Lintner schreibt nämlich: „Behandelt man Hefe mit Kochsalz, so kann man die Gärung unterdrücken, während das Glykogen gleichwohl verschwindet. Durch Extrahieren der so behandelten Hefe mit Wasser erhält man dann eine Flüssigkeit, welche Fehling'sche Lösung reduziert, die Ebene des polarisierten Lichtes nach rechts dreht und mit Phenylhydracin Glukosazon liefert, also jedenfalls Traubenzucker enthält.“ Bei seinen weiteren Versuchen plasmolysierte Lintner Hefe durch gewisse Salze, indem er einen großen Ueberschuß davon anwendete. Es zeigte sich dann auch hierbei, daß trotz der Behandlung der Hefe mit den Salzen in einem Falle ein Verschwinden des Glykogens eintrat, während andere Salze den Vorgang verhinderten. Lintner schreibt hierzu: „Der Einfluß der Salze auf die Hefe dürfte vielleicht so zu erklären sein, daß durch die Wasserentziehung, welche die Salze in verschiedenem Grade bewirken, einerseits eine Reizwirkung auf das Plasma ausgeübt und dasselbe dadurch zu einer lebhafteren Thätigkeit angeregt wird, andererseits eine lähmende Wirkung ausgeübt wird, wenn die Wasserentziehung ein gewisses Maß überschreitet.“

Zusammenfassend gesagt, tritt also das Glykogen bereits in den jungen Sprossen der Hefezelle auf, wenn dieselben etwa $^1/_5$ Längendurchmesser der Mutterzelle erreicht haben. Es wird dann Glykogen in den Zellen aufgespeichert, bis sich am Schlusse der Hauptgärung ein Maximalgehalt an Glykogen darin nachweisen läßt. Nachdem die Hauptgärung des Weines vorüber ist, läßt sich mikrochemisch eine Abnahme des Glykogengehaltes in den Hefezellen konstatieren und zwar schon zu einer Zeit, in welcher noch geringe Mengen Zucker in der gärenden Flüssigkeit vorhanden sind. Das Verschwinden des Glykogens vollzieht sich bei den verschiedenen Heferassen verschieden schnell. In stark hungernden Trubs findet man immer noch eine Anzahl Hefezellen, deren Glykogengehalt unter Umständen noch ein beträchtlicher ist.

---

1) Lintner, C. J., Studien über die Selbstgärung der Hefe. (Centralbl. f. Bakt. etc. 1899. No. 23. p. 795.)

Nach den bisherigen Anschauungen hat man die Selbstgärung der Hefe, d. h. im wesentlichen die Glykogenvergärung als eine Art intramolekularer Atmung aufgefaßt und als einen biologischen Vorgang betrachtet, durch welchen für die Lebensvorgänge verwendbare Kräfte freigemacht werden. Man läßt die Glykogenvergärung mit dem Moment einsetzen, da das Glykogen sichtbar aus den Zellen verschwindet und ohne Zuckerzufuhr von außen in Alkohol und Kohlensäure zerlegt wird, d. h. man hat die Selbstgärung der Hefe an das Ende der Gärung von Flüssigkeiten verlegt.

Allein die neueren Untersuchungen über das Auftreten und Verschwinden des Glykogens in der Hefezelle sprechen dafür, daß zunächst, wie bereits oben ausgeführt wurde, die Vergärung des Glykogens zeitiger beginnt als die Vergärung des in einer gärenden Flüssigkeit vorhandenen Zuckers aufhört. Die neueren Untersuchungen über die Vergärbarkeit des Glykogens lassen aber andererseits erkennen, daß Neubildung und Vergärung des Glykogens in der Hefezelle zwei Prozesse darstellen, die gleichzeitig nebeneinander verlaufen.

Nach Cremer's Untersuchungen vermag Hefepreßsaft Glykogen aus vergärbarem Zucker zu bilden. Die Bildung von Glykogen geht aber nach meinen Untersuchungen gleich bei der Sprossung der Hefe vor sich. Lintner ist es andererseits nicht entgangen, daß das Glykogen bei der Selbstgärung augenscheinlich zuerst in vergärbaren Zucker übergeführt wird.

Versetzt man, wie ich es gethan habe, eine Glykogenlösung mit einer Gerstediastaselösung und Kochsalz, so wird durch das Kochsalz die diastatische Wirkung keineswegs aufgehoben, sondern nach kurzer Zeit ist das Glykogen verzuckert, was man einmal durch Jodjodkaliumlösung direkt nachweisen kann, insofern keine Rotbraunfärbung mehr eintritt, als auch durch die Reduktion der Fehlingschen Lösung. Es kann also trotz der plasmolysierenden Kraft des Kochsalzes der diastatisch wirkende Stoff des Hefeplasmas — denn einen solchen müssen wir, wie auch aus der weiteren Betrachtung hervorgeht, annehmen — das Glykogen verzuckern.

Daß Hefepreßsaft einen Stoff enthalten muß, der wie Diastase wirkt, geht nämlich auch daraus hervor, daß man Glykogen durch zerriebene Hefe in Gärung versetzen kann. Nach Koch und Hosaeus vermag intakte lebende Hefe der Nährlösung zugesetztes Glykogen weder zu assimilieren noch zu vergären. Das erklärt sich daraus, daß einerseits Glykogen nicht durch die Membran der Hefezelle diffundieren kann und andererseits die Hefe keinen Stoff ausscheidet, welcher das Glykogen in diffundierenden, vergärbaren Zucker verwandelt. Ich habe dagegen Preßhefe auf polierten Messern zu einem Brei verrieben, dann einer Glykogenlösung zugesetzt und bereits nach 2 Stunden eine Gärung in der Glykogenlösung erzielt, so daß nach 10 Stunden sämtliches Glykogen vergoren war. Diese Befunde geben nur eine Bestätigung der Versuche Buchner's, dem es bereits 1898 gelungen ist, Glykogen durch Hefepreßsaft zu vergären. In einem Referat über diese Versuche heißt es[1]): „Auf-

1) Vergl. Centralbl. f. Bakt. etc. 1898. p. 523.

fallend verschieden verhalten sich frischer Hefepreßsaft und lebende Hefezellen gegenüber Glykogen. Nach Koch und Hosaeus sind Frohberghefe, eine Preßhefe und eine Bierhefe nicht imstande, künstlich der Nährlösung zugesetztes Glykogen zu vergären. Füllt man dagegen ein auf einer Seite verschlossenes U-Röhrchen mit einer 4-proz. Lösung von Glykogen in wirksamen Hefepreßsaft, so ist bei Zimmertemperatur nach 15 Stunden der eine Schenkel voll Gas. Hieraus ergiebt sich, wie auch schon Koch und Hosaeus gefolgert haben, daß die Hefe kein in die umgebende Flüssigkeit diosmierendes Enzym besitzt, welches aus Glykogen gärungsfähigen, diffusiblen Zucker erzeugt. Das Glykogen hydrolysierende Agens ist offenbar innerhalb der Zelle festgehalten und nicht extrahierbar."

In einem anderen Referate heißt es dann weiter[1]: „Nach einigen Vorversuchen scheint Hefepreßsaft auch auf Kartoffelstärke, wenngleich recht langsam, unter Kohlensäureentwickelung einzuwirken." Das ist meiner Meinung nach nur möglich, wenn der Hefepreßsaft einen diastatisch wirkenden Stoff enthält.

Endlich besitzt das Plasma der Hefezelle auch Stoffe, welche den Zucker vergären, wie aus den Untersuchungen Buchner's zur Genüge bekannt ist.

Zusammenfassend müssen wir also annehmen, daß das Plasma der Hefezelle Stoffe enthält, welche aus vergärbarem Zucker Glykogen bilden, ferner Stoffe, die wie Diastase wirken, d. h. das Glykogen in vergärbaren Zucker überführen und endlich Stoffe (Zymase), welche diesen aus dem Glykogen gewonnenen Zucker in Alkohol und Kohlensäure zerlegen.

Es ist aber nicht einzusehen, warum die Verzuckerung und Vergärung des Glygogens erst in dem Moment stattfinden soll, wenn man mikrochemisch eine Abnahme im Glykogengehalt der Hefezelle nachweisen kann. Vielmehr muß meiner Ansicht nach die Zerstörung des Glykogens neben gleichzeitiger Neubildung schon von dem Moment an beginnen, wenn die Hefe Gärthätigkeit zeigt, d. h. vom Anfang ihrer Entwickelung im Moste an. Denn die glykogenbildenden, -lösenden und -vergärenden Stoffe enthält das Plasma nicht erst am Ende der Gärung, wenn man eine Abnahme des Glykogens in der Hefezelle wahrnimmt. Für diese Ansicht spricht auch die oben erwähnte Thatsache, daß man bei manchen von den Hefezellen gerade zur Zeit des größten Glykogengehaltes der meisten anderen Zellen eine schnelle Glykogenabnahme eintreten sieht; offenbar deshalb, weil diese Zellen aus physiologischen Gründen zeitiger mit der Aufnahme des Zuckers aufhören, während trotzdem die Zerstörung des Glykogens infolge der Bestandteile des Plasmas, die wie Diastase wirken, weiter fortschreitet.

Nach dem Gesagten muß man sich also den Vorgang des Auftretens und Verschwindens des Glykogens in der Hefezelle so vorstellen, daß, je nachdem die Neubildung des Glykogens die Zerstörung desselben überwiegt oder nicht, es zu einer nachweisbaren Ansammlung bezw. zu einem Verschwinden des Glykogens in der Hefezelle kommt. Der letztere Fall tritt dann ein, wenn nur noch

1) Vergl. Centralbl. f. Bakt. etc. 1898. p. 861.

geringe Mengen von Zucker in der gärenden Flüssigkeit vorhanden sind oder wenn der Zucker daraus infolge der Zymasewirkung vollständig verschwunden ist.

Frägt man nun nach der Rolle, welche das Glykogen für das Leben der Hefezelle spielt, so wird aus dem Vorhergehenden ersichtlich, daß die Vergärung des Glykogens nicht ausschließlich, wie Lintner annimmt, als ein Vorgang betrachtet werden kann, durch welchen für die Lebensvorgänge in der Hefezelle verwendbare Kräfte freigemacht werden. Denn im Anfang ihrer Entwickelung besitzt die Hefe in dem Zucker des Mostes allein eine Kraftquelle, die zur Unterhaltung ihrer Lebensvorgänge mehr als ausreichend ist. Man kann dagegen behaupten, daß allerdings auch zu dieser Zeit durch die Vergärung des Glykogens ein gewisses Maß verwendbarer Kraft für die Hefe geschaffen wird, und daß nach der Vergärung des Zuckers in der Flüssigkeit, in welcher die Hefe lebt, das Glykogen eine wesentliche Kraftquelle für die Hefe bildet.

Das Glykogen stellt für die Hefezelle einen Reservestoff dar; aber nicht einen Reservestoff, der erst angegriffen und verbraucht wird, wenn die Zelle Mangel an Zucker hat, sondern einen transitorischen Reservestoff.

Wenn der in die Zelle diffundierte Zucker zum Teil verbraucht, zum Teil in Glykogen schon bei der ersten Sprossung umgewandelt wird, so verhält sich die Hefezelle trotz des steten Zuflusses von Traubenzucker immerfort wie ein zuckerfreier Körper, und es können wegen dieser Umwandlung des Traubenzuckers in Glykogen zunächst andauernd größere Mengen von Zucker in die Zelle diffundieren und zum Teil, eben in Form von Glykogen, festgehalten werden. Mit anderen Worten: Durch die Umwandlung des in die Zelle diffundierten Traubenzuckers in Glykogen wird das osmotische Gleichgewicht zwischen Most einer- und Zellinnerem andererseits konstant verhindert. Nach meiner Auffassung spielt also das Glykogen dieselbe Rolle, wie etwa die Stärke in den Kartoffelknollen. Sachs drückt treffend den Gedanken folgendermaßen aus[1]: „Jeder Diffusionsvorgang, jeder diosmotische Prozeß zwischen einer lebenden Zelle und ihrer Umgebung muß eher oder später bei ungestörtem Verlauf in einen gewissen Gleichgewichtszustand übergehen, welcher den gerade gegebenen diosmotischen Bedingungen entspricht, und dann hört jede weitere Diffusionsbewegung in diesem Falle auf. Kann z. B. eine Zelle aus ihrer Umgebung Zucker endosmotisch aufnehmen, so wird die Aufnahme aufhören, sobald gleiche Konzentration oder doch ein den Umständen entsprechendes Gleichgewicht innerhalb und außerhalb der Zelle eingetreten ist; wird aber der in die Zelle eintretende Zucker z. B. zur Stärkebildung benutzt, so wird, so lange die Stärkebildung dauert, auch immerfort neuer Zucker in dieselbe Zelle eintreten können, und man erkennt sofort, daß hier die chemische Metamorphose des diosmierenden Körpers den Eintritt des Diffusionsgleichgewichtes hindert und dazu beiträgt, immer größere Quantitäten in die Zelle einzuführen, wobei sich die letztere ihrer zuckerhaltigen Umgebung gegenüber wie ein Anziehungscentrum verhält."

1) Sachs, Vorlesungen über Pflanzenphysiologie. 2. Aufl. Leipzig 1887. p. 354.

Durch die Umwandlung des Zuckers in Glykogen innerhalb der Hefezelle gleich vom Anfang ihrer Entwickelung im Most an befindet sie sich aber in dem Konkurrenzkampfe mit anderen Organismen des Mostes, die nicht Glykogen zu bilden vermögen, wesentlich im Vorteil. Einmal kann sie schneller und mehr Zucker aus der umgebenden Flüssigkeit aufnehmen als diese, und infolgedessen ist es ihr zweitens auch möglich, die für die Entwickelung und Wirkung anderer Organismen so verhängnisvollen Stoffe, Alkohol und Kohlensäure, schnell und in ausgiebigem Maße zu produzieren.

18. Mai 1900.

Nachdruck verboten.

Ueber den Einfluss der Bakterien auf die Knochenzersetzung.

Von Prof. Dr. **Jul. Stoklasa,**
Leiter der landwirtschaftlich-physiologischen Versuchsstation in Prag.
Unter Mitwirkung der Assistenten F. Ducháček und J. Pitra.

Mit 9 Tafeln und 1 Figur.

(Schluß.)

II. Versuche im Glashause.

Zu den Versuchen in großem Glashause wurde Hafer, Avena sativa, verwendet. Der Boden wurde Versuchsfeldern entnommen und enthielt in der Trockensubstanz:

Von feinkörnigem Boden haben sich in 10-proz. Salzsäure im kalten Zustande binnen 5 Stunden gelöst:

Phosphorsäure	0,028	Proz.
Kaliumoxyd	0,088	„
Natriumoxyd	0,163	„
Calciumoxyd	0,846	„
Magnesiumoxyd	0,025	„
Stickstoffgehalt dieses Bodens	0,144	„

Die angewandten Vegetationsgefäße waren aus Thon hergestellt, ohne Glasur, 35 cm hoch, 27 cm im Durchmesser. Die unten angebrachte Seitenöffnung war mit einem Stöpsel mit gebogenem Glasrohre versehen, welches als Wasserstandszeiger diente. Enthielt das Gefäß einen Ueberfluß an Wasser, so wurde dieses durch ein einfaches Drehen nach unten ausgelassen; ebenso diente dasselbe zur Befeuchtung, so daß ein Verlust an Nährstoffen nicht eintreten konnte. Die Gefäße wurden ganz mit Erde gefüllt; deren Gewicht betrug 32 kg mit 12 Proz. Wasser.

Der Boden wurde nicht sterilisiert und zwar aus folgenden Gründen: Sterilisiert man den Boden und das Vegetationsgefäß, wie auch alle Nährstoffe, bedeckt man sodann das Gefäß mit steriler Baumwolle und bringt unter Beobachtung aller bakteriologischen Kautelen den ebenfalls sterilisierten Samen in den Boden, so findet

man schon nach Ablauf von 25—30 Tagen, wo die Pflanze üppiger zu vegetieren anfängt, daß in den Boden doch Mikroben eingedrungen sind und sich hier ziemlich energisch vermehren.

In solchen sterilen Vegetationsgefäßen wurden trotz aller Aufmerksamkeit und Vorsicht bei dem Begießen mit sterilem Wasser und der Pflege der Pflanzen nach 32 Tagen nach der Saat 16000—25000 vegetative Mikrobenkeime in 1 g Boden konstatiert.

Die Bakterien, welche in den Boden eingedrungen waren und hier ein für ihre weitere Entwickelung geeignetes Medium gefunden haben, haben sich ununterbrochen stark vermehrt, so daß nach 70 Vegetationstagen in 1 g Boden 82000—90000 vegetative Mikrobenkeime gefunden werden konnten.

Auf Grund dieser Erkenntnis und langjähriger Erfahrung kann ich erklären, daß durchaus exakte Versuche mit sterilem Boden nur in Glasgefäßen ausgeführt werden können, die entsprechend angeordnet sind und zwar etwa in der Weise, wie ich dies in meiner Studie „Ueber den Einfluß der Bakterien auf die Entwickelung der Pflanzen" besprochen habe.

Ich habe daher bei den folgenden Versuchen von Experimenten mit sterilisiertem Boden Umgang genommen und vielmehr einer intensiven Infektion mit der reinen Kultur des betreffenden Bacillus Vorzug gegeben. Es wurde nämlich durch bakteriologische Forschungen bestätigt, daß eine intensive Infektion durch einheitliche virulente Kultur eines Mikroben dessen gänzliche Entwickelung und Verdrängen anderer Mikrobengattungen genügt.

Die Anordnung der Versuche in der oben angedeuteten Richtung entspricht somit der Wirklichkeit.

1) Die Einteilung der Vegetationsgefäße mit verschiedenem Nährmaterial und verschiedener Impfung durch einzelne Bakterienspecien.

Die Düngung fand am 10. April 1898 in folgender Reihenfolge statt:

A. Der 1. Teil der Gefäße wurde mit 5 g gedämpftem Knochenmehl gedüngt und blieb ohne Infektion.

B. Der 2. Teil erhielt 5,3 g Superphosphat und 1,6 g Natriumnitrat; keine Infektion.

C. Der 3. Teil wurde mit 5 g gedämpftem Knochenmehl gedüngt und am 19. April mit 50 ccm Alinit-Suspension infiziert, die durch Auflösung von 1,5 g Alinit in 500 ccm sterilen Wassers gewonnen wurde; ein anderer Teil wurde mit reiner Kultur des Bacillus megatherium infiziert.

D. Der 4. Teil erhielt dasselbe und außerdem 2,5 g Glukose in 100 ccm Wasser gelöst.

E. Der 5. Teil der Gefäße wurde wie D. bezw. C. gedüngt; die Glukose wurde aber durch 2,5 g Xylose, in 200 ccm Wasser gelöst, ersetzt.

F. Der 6. Teil erhielt 5 g gedämpftes Knochenmehl und 2,5 g Glukose; Infektion mit reiner Kultur des Bac. fluorescens liquefaciens.

G. Der 7. Teil wurde mit 5 g Knochenmehl und 2,5 g Glukose gedüngt; Infektion mit reiner Kultur des Bac. proteus vulgaris.

H. Der 8. Teil wurde in gleicher Weise wie der 7. behandelt; Infektion durch reine Kultur des Bac. butyricus.

I. Der 9. Teil erhielt dieselbe Düngung wie beide vorangehende; Infektion durch reine Kultur des Bac. mycoides.

K. Der 10. Teil der Vegetationsgefäße wurde ebenso gedüngt; die Infektion fand jedoch mit reiner Kultur das Bac. mesentericus vulgatus statt.

Die Infektion durch die einzelnen reinen Bakterienkulturen wurde in der Weise durchgeführt, daß die Bouillonkulturen des betreffenden Bacillus mit sterilem Wasser auf 1000 ccm verdünnt wurden, wovon zur Infektion 100 ccm verwendet wurden.

Die Lösung enthielt in 100 ccm an Stickstoff:

Bac. fluorescens liquefaciens	0,027 g
„ proteus vulgaris	0,029 g
„ butyricus	0,026 g
„ mycoides	0,027 g
„ mesentericus vulgatus	0,029 g
„ megatherium[1])	0,028 g

Erwägt man, daß pro Gefäß nur 100 ccm Suspension verwendet wurden, so entfällt auf die einzelnen Gefäße nur das kleine Quantum der Stickstoffmenge, wurde daher nicht in Rechnung gezogen.

2. Die Analyse der Nährstoffe.

Das fein gemahlene Knochenmehl enthielt in der Trockensubstanz:

Phosphorsäure	19,8 Proz.
Stickstoff	5,26 „
Fett	1,5 „

An mittels Chloroform trennbarem Stickstoff wurden 0,68 Proz., somit 12,9 Proz. des gesamten Stickstoffes gefunden[2]).

Das Superphosphat enthielt 18,8 Proz. wasserlösliche Phosphorsäure: die für jedes Gefäß angewandte Menge von 5,3 g Superphosphat enthielt somit die gleiche Menge Phosphorsäure wie 5 g Knochenmehl.

Der Stickstoff wurde in Form von Natriumnitrat geliefert, welches 16,2 Proz. Stickstoff enthielt. Die angewandte Menge von 1,6 g entspricht somit dem Stickstoffgehalte von 5 g Knochenmehl.

3. Die Aussaat und die Entwickelung der Vegetation.

Die Aussaat wurde am 16. April durchgeführt.

Der Samen war von guter Qualität und wurden in jedes Gefäß 4 Samen gebracht, die früher durch 2 Stunden im Wasser aufgeweicht

1) Ich wende hier ausschließlich nur die Bezeichnung Bac. megatherium an, wozu ich aber ausdrücklich bemerke, daß zwischen diesem Bacillus und den Alinitbakterien gar kein Unterschied besteht, was auch diese Vegetationsversuche bestätigt haben. Siehe übrigens meine „Biologische Studien über Alinit“.

2) Die Isolation wurde mit Hilfe des in meinem Referate für die I. Versammlung der Vertreter österr. Versuchsstationen „Wie ist der Nährstoff des Knochenmehles zu bestimmen?“ besprochenen Apparates ausgeführt. Wien 1897.

wurden. Die ganze Anordnung und die Pflege der Vegetation war dahin gerichtet, eine thunlichst gleichmäßige Entwickelung unter gleichen Verhältnissen zu erzielen. Die Feuchtigkeit wurde in allen Vegetationsgefäßen gleichmäßig erhalten und zwar mittels sterilisierten Wassers. Bei Tage wurden die Gefäße bei günstiger Witterung auf Wagen in ein Drahtnetz hervorgeschoben und in der Nacht wieder in das Vegetationshaus zurückgebracht.

Es zeigte sich gleich in der Entwickelung des Hafers ein merklicher Unterschied, so daß beim ersten Blick die infizierte Haferkultur von der nicht infizierten unterschieden werden konnte, und ebenso machte sich auch die ungleiche Einwirkung der verschiedenen Bakteriengattungen auf die Zersetzung des Knochenmehls bemerkbar. Die höchste Entwickelung wiesen Haferkulturen mit durch Alinitbakterien bezw. Bac. megatherium geimpftem Boden bei Gegenwart von Xylose auf.

Während der ganzen Vegetationsdauer wurde der Boden der Gefäße fleißig untersucht. Durch diese bakteriologischen Forschungen wurde in allen Böden eine sehr bedeutende, bei manchen sogar eine riesige Entwickelung jener Bakterien konstatiert, mittelst welchen der Boden der betreffenden Gefäße infiziert worden war; dies gilt namentlich bezüglich des Bac. mycoides.

Die Fechsung fand Mitte August statt und die folgende Tabelle (p. 558) enthält eine übersichtliche Zusammenstellung der Ergebnisse dieser Versuche:

Uebersieht man die gewonnenen Ergebnisse, so findet man eine vollständige Harmonie zwischen den biologischen und den Vegetationsversuchen. Der Bacillus, der sich durch Energie in der Ausscheidung von Enzymen gekennzeichnet hat, welche intensive hydrolytische Prozesse in den Knochen und zwar die Transformation des organischen Stickstoffes in Amidstoffe (inkl. Ammoniak) hervorgerufen haben, hat das Knochenmehl im Boden ebenfalls energisch zersetzt. Die entstandenen Amidstoffe und Ammonsalze wurden entweder als solche durch die Wurzeln der Pflanzen assimiliert oder haben, bevor sie in voller Menge resorbiert wurden, weitere Prozesse durchgemacht. Der Amidstickstoff wurde endlich durch den Ammonisationsprozeß gänzlich mineralisiert; es ist allerdings aber die Möglichkeit nicht ausgeschlossen, daß durch diese Ammonisation die biologischen Prozesse ihr Ende noch nicht gefunden haben, sondern daß im Boden die Nitrosation stattfand, welche schließlich in Nitratation geendet hat. Die gebildeten Nitrate konnten wieder durch Dentrifikationsprozesse bis auf elementaren Stickstoff reduziert, wie dies bei dem Bac. fluorescens liquefaciens faktisch konstatiert wurde, oder durch andere biologische Prozesse in Ammoniak übergeführt werden.

Durch unsere Versuche wurde festgestellt, daß diese Fähigkeit, Nitrate in Nitrite und schließlich in Ammoniak zu überführen, folgende Mikrobengattungen besitzen: Bac. megatherium, Bac. proteus vulgaris, Bac. butyricus, Bac. mycoides und Bac. mesentericus vulgatus. — Hiermit sind aber die biologischen Prozesse im Boden noch immer nicht erschöpft, denn infolge der beständigen Vermehrung der Mikroben in den Vegetationsgefäßen

G. Der 7. Teil wurde mit 5 g Knochenmehl und 2,5 g Glukose gedüngt; Infektion mit reiner Kultur des Bac. proteus vulgaris.

H. Der 8. Teil wurde in gleicher Weise wie der 7. behandelt; Infektion durch reine Kultur des Bac. butyricus.

I. Der 9. Teil erhielt dieselbe Düngung wie beide vorangehende; Infektion durch reine Kultur des Bac. mycoides.

K. Der 10. Teil der Vegetationsgefäße wurde ebenso gedüngt; die Infektion fand jedoch mit reiner Kultur das Bac. mesentericus vulgatus statt.

Die Infektion durch die einzelnen reinen Bakterienkulturen wurde in der Weise durchgeführt, daß die Bouillonkulturen des betreffenden Bacillus mit sterilem Wasser auf 1000 ccm verdünnt wurden, wovon zur Infektion 100 ccm verwendet wurden.

Die Lösung enthielt in 100 ccm an Stickstoff:

Bac. fluorescens liquefaciens	0,027 g
„ proteus vulgaris	0,029 g
„ butyricus	0,026 g
„ mycoides	0,027 g
„ mesentericus vulgatus	0,029 g
„ megatherium[1])	0,028 g

Erwägt man, daß pro Gefäß nur 100 ccm Suspension verwendet wurden, so entfällt auf die einzelnen Gefäße nur das kleine Quantum der Stickstoffmenge, wurde daher nicht in Rechnung gezogen.

2. Die Analyse der Nährstoffe.

Das fein gemahlene Knochenmehl enthielt in der Trockensubstanz:

Phosphorsäure	19,8 Proz.
Stickstoff	5,26 „
Fett	1,5 „

An mittels Chloroform trennbarem Stickstoff wurden 0,68 Proz., somit 12,9 Proz. des gesamten Stickstoffes gefunden[2]).

Das Superphosphat enthielt 18,8 Proz. wasserlösliche Phosphorsäure: die für jedes Gefäß angewandte Menge von 5,3 g Superphosphat enthielt somit die gleiche Menge Phosphorsäure wie 5 g Knochenmehl.

Der Stickstoff wurde in Form von Natriumnitrat geliefert, welches 16,2 Proz. Stickstoff enthielt. Die angewandte Menge von 1,6 g entspricht somit dem Stickstoffgehalte von 5 g Knochenmehl.

3. Die Aussaat und die Entwickelung der Vegetation.

Die Aussaat wurde am 16. April durchgeführt.

Der Samen war von guter Qualität und wurden in jedes Gefäß 4 Samen gebracht, die früher durch 2 Stunden im Wasser aufgeweicht

1) Ich wende hier ausschließlich nur die Bezeichnung Bac. megatherium an, wozu ich aber ausdrücklich bemerke, daß zwischen diesem Bacillus und den Alinitbakterien gar kein Unterschied besteht, was auch diese Vegetationsversuche bestätigt haben. Siehe übrigens meine „Biologische Studien über Alinit“.

2) Die Isolation wurde mit Hilfe des in meinem Referate für die I. Versammlung der Vertreter österr. Versuchsstationen „Wie ist der Nährstoff des Knochenmehles zu bestimmen?“ besprochenen Apparates ausgeführt. Wien 1897.

wurden. Die ganze Anordnung und die Pflege der Vegetation war dahin gerichtet, eine thunlichst gleichmäßige Entwickelung unter gleichen Verhältnissen zu erzielen. Die Feuchtigkeit wurde in allen Vegetationsgefäßen gleichmäßig erhalten und zwar mittels sterilisierten Wassers. Bei Tage wurden die Gefäße bei günstiger Witterung auf Wagen in ein Drahtnetz hervorgeschoben und in der Nacht wieder in das Vegetationshaus zurückgebracht.

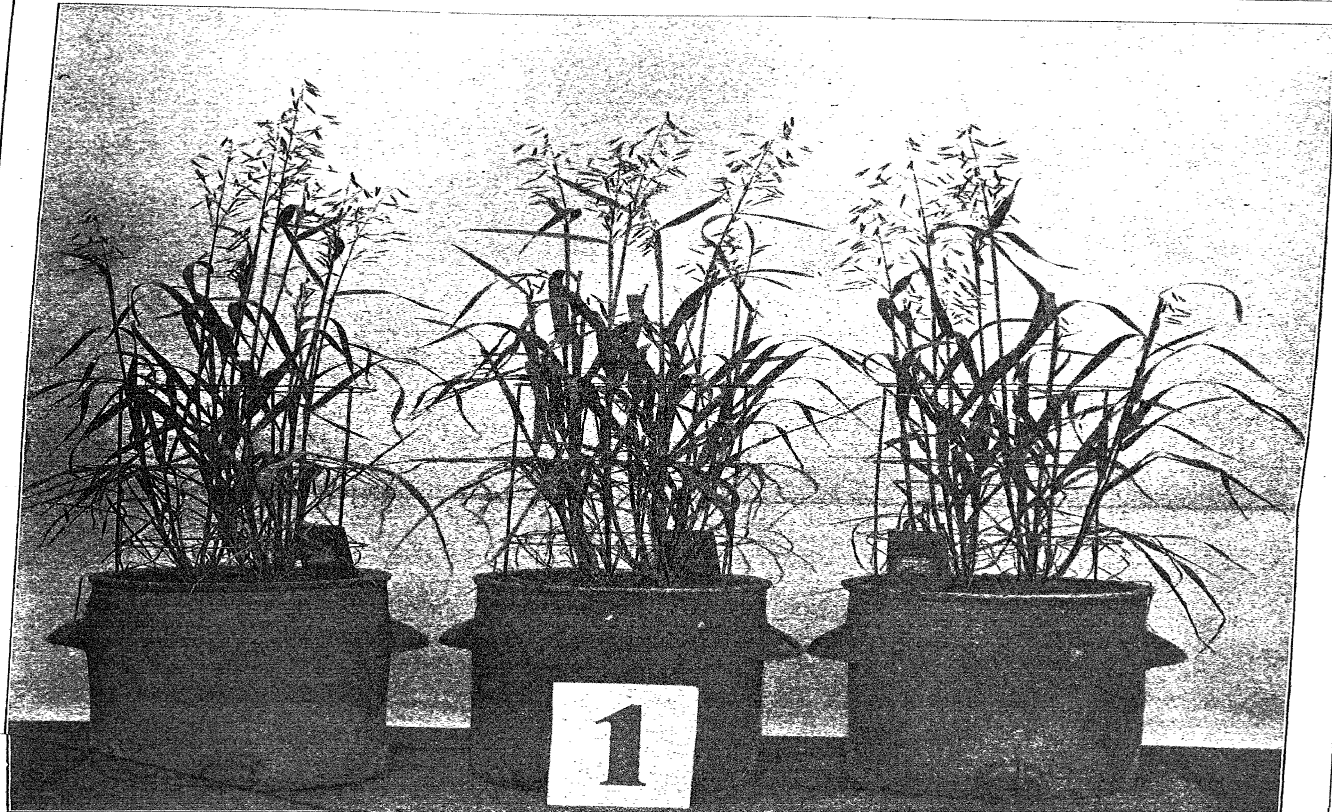
Es zeigte sich gleich in der Entwickelung des Hafers ein merklicher Unterschied, so daß beim ersten Blick die infizierte Haferkultur von der nicht infizierten unterschieden werden konnte, und ebenso machte sich auch die ungleiche Einwirkung der verschiedenen Bakteriengattungen auf die Zersetzung des Knochenmehls bemerkbar. Die höchste Entwickelung wiesen Haferkulturen mit durch Alinitbakterien bezw. Bac. megatherium geimpftem Boden bei Gegenwart von Xylose auf.

Während der ganzen Vegetationsdauer wurde der Boden der Gefäße fleißig untersucht. Durch diese bakteriologischen Forschungen wurde in allen Böden eine sehr bedeutende, bei manchen sogar eine riesige Entwickelung jener Bakterien konstatiert, mittelst welchen der Boden der betreffenden Gefäße infiziert worden war; dies gilt namentlich bezüglich des Bac. mycoides.

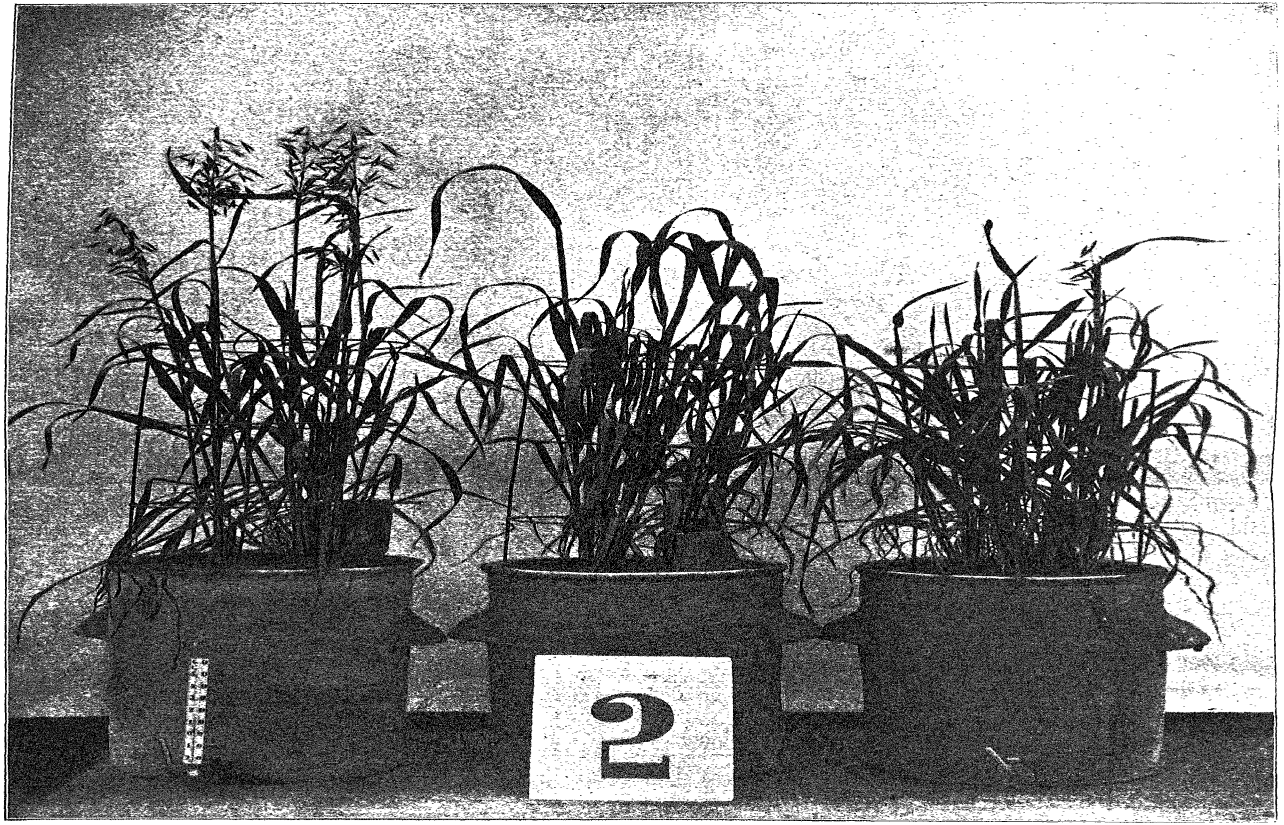
Die Fechsung fand Mitte August statt und die folgende Tabelle (p. 558) enthält eine übersichtliche Zusammenstellung der Ergebnisse dieser Versuche:

Uebersieht man die gewonnenen Ergebnisse, so findet man eine vollständige Harmonie zwischen den biologischen und den Vegetationsversuchen. Der Bacillus, der sich durch Energie in der Ausscheidung von Enzymen gekennzeichnet hat, welche intensive hydrolytische Prozesse in den Knochen und zwar die Transformation des organischen Stickstoffes in Amidstoffe (inkl. Ammoniak) hervorgerufen haben, hat das Knochenmehl im Boden ebenfalls energisch zersetzt. Die entstandenen Amidstoffe und Ammonsalze wurden entweder als solche durch die Wurzeln der Pflanzen assimiliert oder haben, bevor sie in voller Menge resorbiert wurden, weitere Prozesse durchgemacht. Der Amidstickstoff wurde endlich durch den Ammonisationsprozeß gänzlich mineralisiert; es ist allerdings aber die Möglichkeit nicht ausgeschlossen, daß durch diese Ammonisation die biologischen Prozesse ihr Ende noch nicht gefunden haben, sondern daß im Boden die Nitrosation stattfand, welche schließlich in Nitratation geendet hat. Die gebildeten Nitrate konnten wieder durch Dentrifikationsprozesse bis auf elementaren Stickstoff reduziert, wie dies bei dem Bac. fluorescens liquefaciens faktisch konstatiert wurde, oder durch andere biologische Prozesse in Ammoniak übergeführt werden.

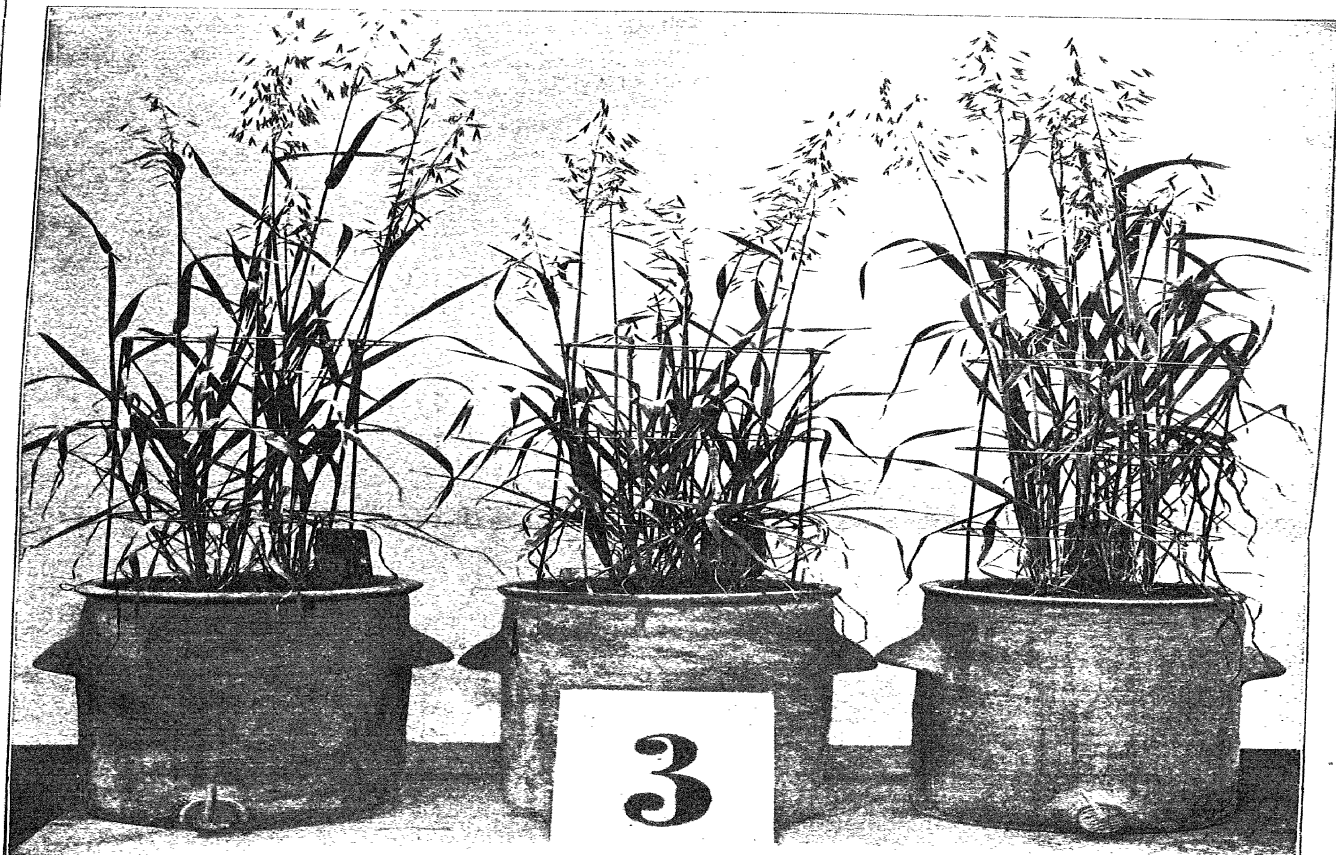
Durch unsere Versuche wurde festgestellt, daß diese Fähigkeit, Nitrate in Nitrite und schließlich in Ammoniak zu überführen, folgende Mikrobengattungen besitzen: Bac. megatherium, Bac. proteus vulgaris, Bac. butyricus, Bac. mycoides und Bac. mesentericus vulgatus. — Hiermit sind aber die biologischen Prozesse im Boden noch immer nicht erschöpft, denn infolge der beständigen Vermehrung der Mikroben in den Vegetationsgefäßen



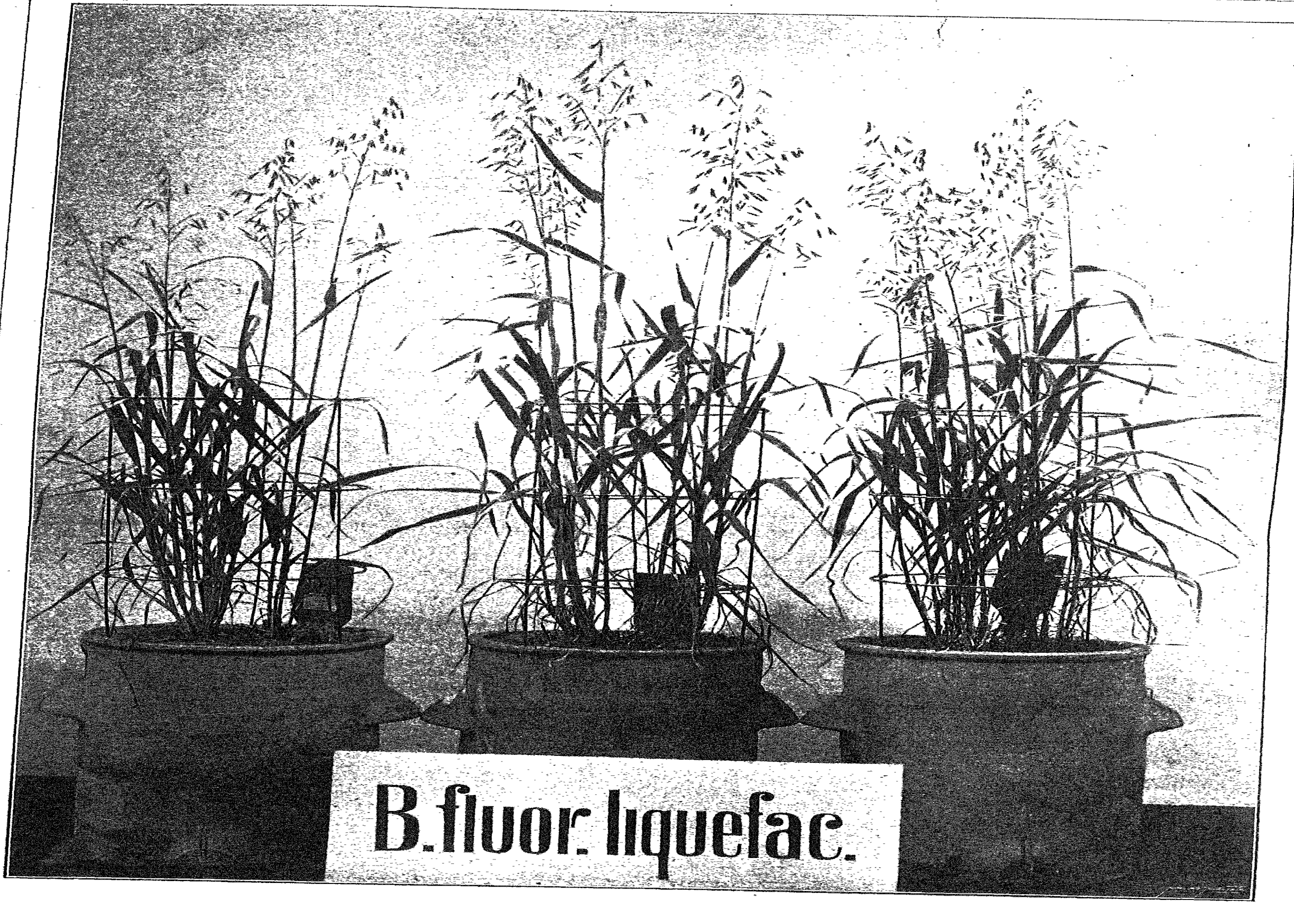
V... von **Gustav Fischer** in Jena.

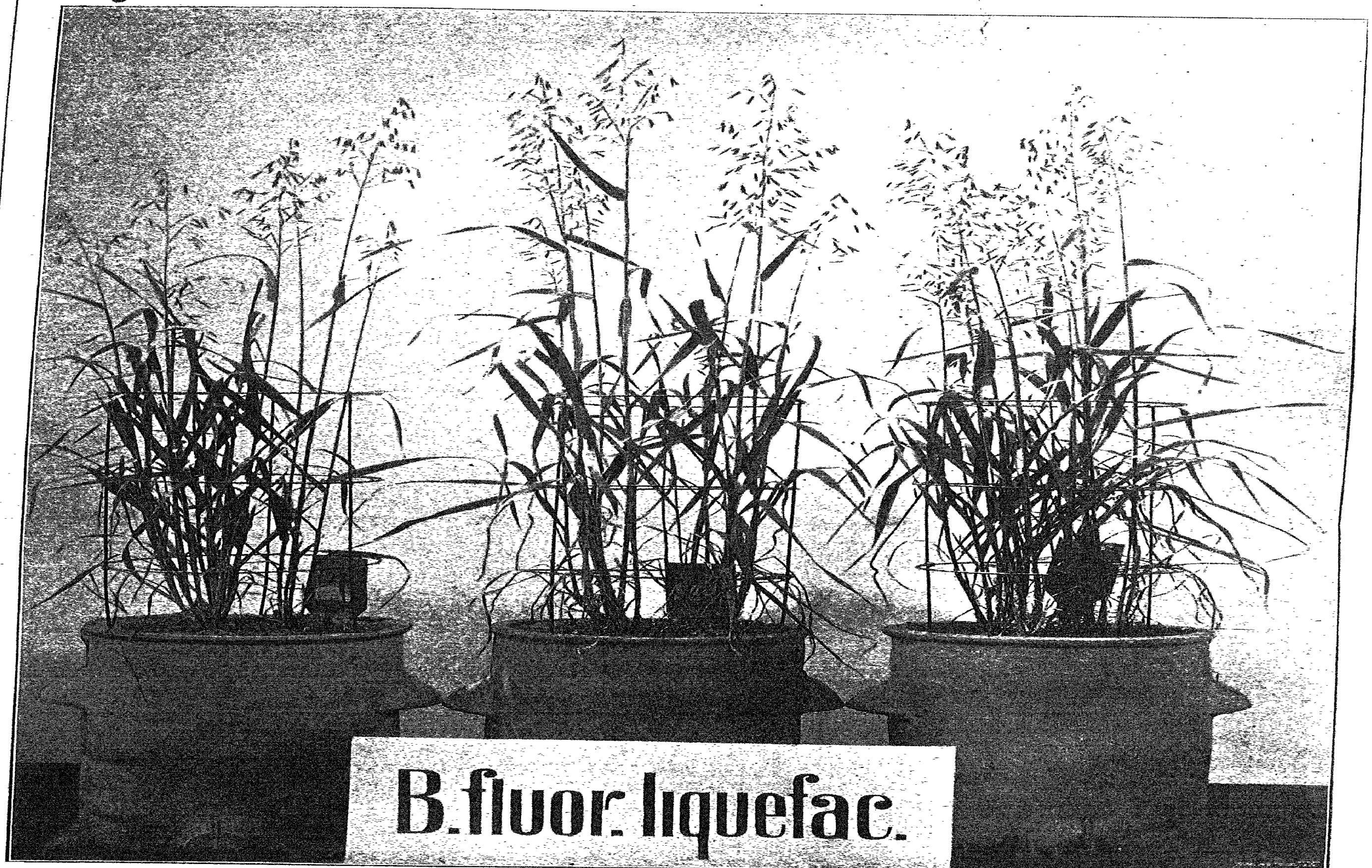


Verlag von **Gustav Fischer** in Jena.

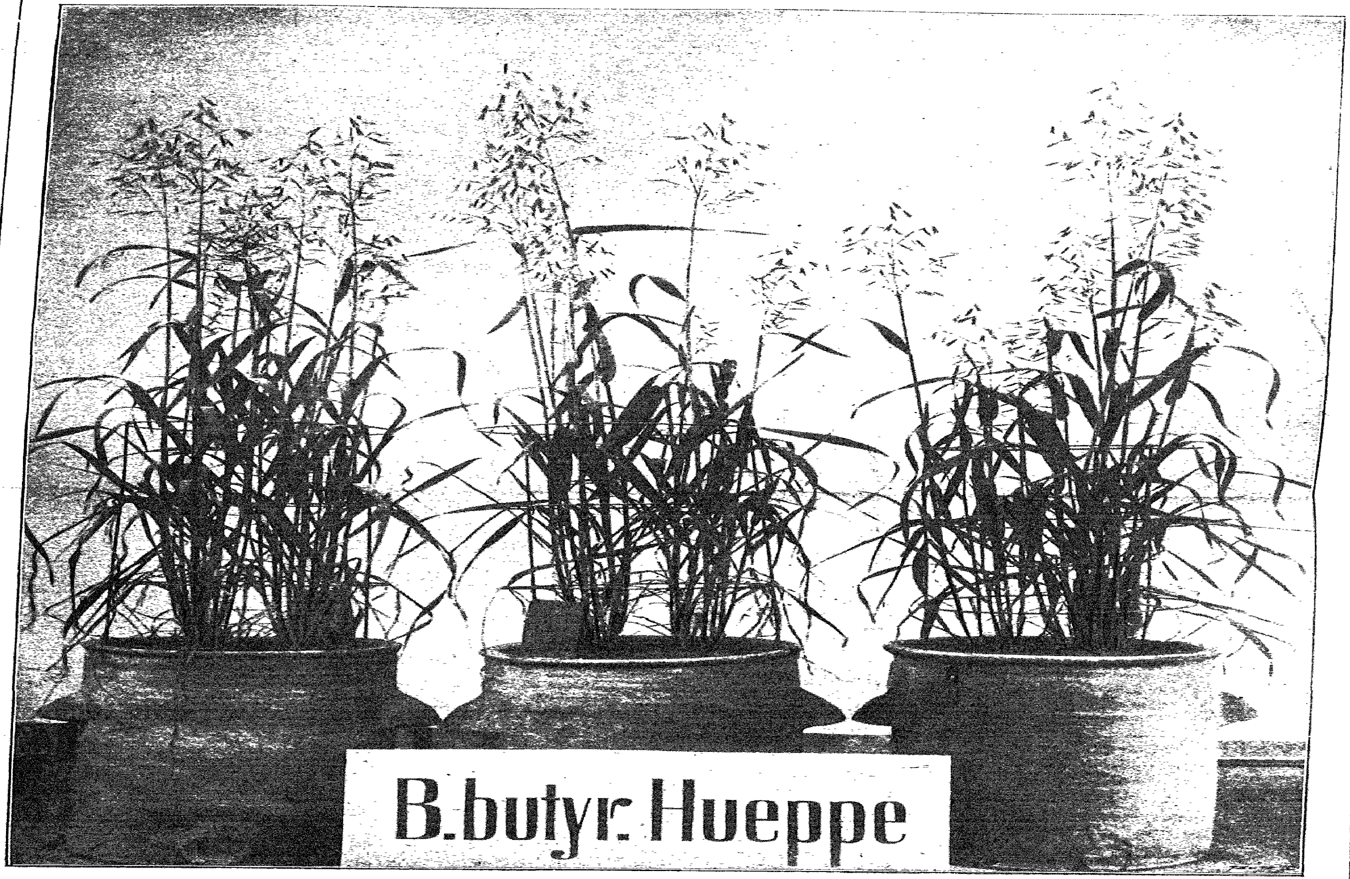


Verlag von **Gustav Fischer** in Jena.

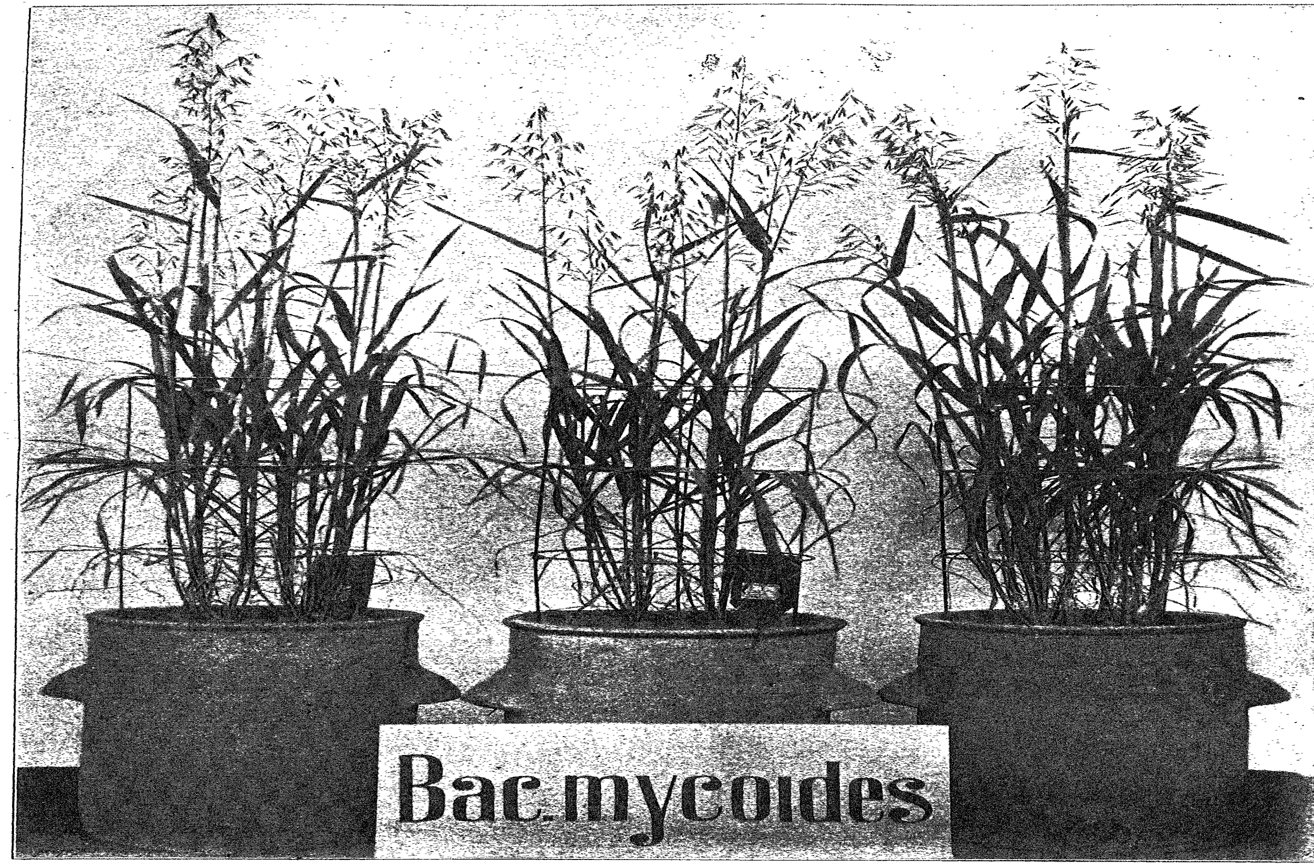

B. fluor. liquefac.



Verlag von **Gustav Fischer** in Jena.



Verlag von Gustav Fischer in Jena.



Verlag von **Gustav Fischer** in Jena.



Verlag von Gustav Fischer in Jena.

Reihe	Infiziert	Düngungsart	Menge der Nährstoffe pro Vegetationsgefäß in g	Ertrag von 10 Gefäßen		
				Körner g	Stroh g	Zusam. g
I.	nicht infiziert	ged. Knochenmehl 5 g P_2O_5 19,8 Proz. N 5,26 „	P_2O_5 0,99 N 0,263	161,32	213,81	375,13
II.	„ „	Superphosphat 5,3 g P_2O_5 (wasserlöslich) 18,8 Proz. N (in Form v. $NaNO_3$) 1,6 g	P_2O_5 (wasserlösl.) 0,99 N 0,263	213,98	260,13	474,11
III.	Bac. megather.	ged. Knochenmehl 5 g P_2O_5 19,8 Proz. N 5,26 „	P_2O_5 0,99 N 0,263	246,79	267,85	514,64
IV.	„ „	ged. Knochenmehl 5 g P_2O_5 19,8 Proz. N 5,26 „ Glukose 2,5 g	do.	285,88	306,11	591,99
V.	„ „	ged. Knochenmehl 5 g P_2O_5 19,8 Proz. N 5,26 „ Xylose 2,5 g	do.	320,52	398,04	718,56
VI.	Bac. fluor. liquefaciens	ged. Knochenmehl 5 g P_2O_5 19,8 Proz. N 5,26 „ Glukose 2,5 g	do.	165,26	272,26	437,52
VII.	Bac. proteus vulgaris	ged. Knochenmehl 5 g P_2O_5 19,8 Proz. N 5,26 „ Glukose 2,5 g	do.	235,26	289,03	524,29
VIII.	Bac. butyricus	ged. Knochenmehl 5 g P_2O_5 19,8 Proz. N 5,26 „ Glukose 2,5 g	do.	230,79	285,99	516,78
IX.	Bac. mycoides	ged. Knochenmehl 5 g P_2O_5 19,8 Proz N 5,26 „ Glukose 2,5 g	do.	263,66	350,20	613,86
X.	Bac. mesentericus vulgaris	ged. Knochenmehl 5 g P_2O_5 19,8 Proz. N 5,26 „ Glukose 2,5 g	do.	283,21	353,77	636,98

In den beigeschlossenen Abbildungen (Tab. I—IX) sind die Photographieen der einzelnen Kulturen von Mitte Juli reproduziert.

Erklärung der Abbildungen.

Taf. I. Nicht infiziert — P_2O_5 0,99 g, N 0,263 g } in Form von Knochenmehl

„ II. Infiziert: Bac. fluorescens liquef. — P_2O_5 0,99 g als Superphos., N 0,263 g „ $NaNO_3$

„ III. Nicht infiziert — P_2O_5 0,99 g als Superphos., N 0,263 g „ $NaNO_3$

„ IV. Infiziert: Bac. megatherium — P_2O_5 0,99 g, N 0,263 g } in Form von Knochenmehl, Glukose 2,5 g

Taf. V.	Infiziert:	Bac. fluor. liquefaciens	P_2O_5 0,99 g N 0,263 g Glukose 2,5 g	do.
„ VI.	„	Bac. proteus vulgaris	P_2O_5 0,99 g N 0,263 g Glukose 2,5 g	do.
„ VII.	„	Bac. butyricus Hueppe	P_2O_5 0,99 g N 0,263 g Glukose 2,5 g	do.
„ VIII.	„	Bac. mycoides	P_2O_5 0,99 g N 0,263 g Glukose 2,5 g	do.
„ IX.	„	Bac. mesentericus vulg.	P_2O_5 0,99 g N 0,263 g Glukose 2,5 g	do.

entsteht aus den Ammonsalzen, bezw. aus den Nitraten, wieder der organische Stickstoff, der nach dem Absterben der einzelnen Mikrobenkolonieen wieder mineralisiert wird. Man sieht hier eine ganze Kette ununterbrochener biologischer Umwandlungen der Stickstoffverbindungen im Boden, und es ist hier nahezu unmöglich, zu sagen, wo die Synthese und die Analyse der lebenden Mikrobenzelle beginnen oder enden.

Der Mikrob Bacillus fluorescens liquefaciens hat sich bei allen biologischen und Vegetationsversuchen so auffallend verhalten, daß ihm eine besondere Aufmerksamkeit zugewendet wurde, insbesondere als man erkannt hat, daß er die Nitrate durch einen Denitrifikationsprozeß in elementaren Stickstoff überführt. Zum Zwecke der Erkenntnis der Einwirkung dieses Bacillus auf die Denitrifikationsprozesse wurden weitere Vegetationsversuche, und zwar abermals mit Hafer, vorgenommen.

Jedes der 5 Vegetationsgefäße wurde mit 0,263 g Stickstoff in Form von Chilisalpeter und 0,99 g Phosphorsäure in Form von mineralischem Superphosphat gedüngt, somit mit den gleichen Mengen von Nährstoffen, wie sie in 5 g Knochenmehl enthalten waren. Der Boden wurde mit reiner Kultur des Bac. fluorescens liquefaciens intensiv infiziert, und der ganze Versuch wurde sonst in der gleichen Weise ausgeführt, wie eingangs erwähnt wurde.

Die Entwickelung der Haferpflanzen ging nur sehr langsam vor sich. Der Ertrag, auf 10 Vegetationsgefäße umgerechnet, ergab im ganzen 120 g Körner und 186 g Stroh [1]).

Hier wurde der biologische Denitrifikationsprozeß in seinem vollen Umfange bestätigt. Es kann keinem Zweifel unterliegen, daß der Chilisalpeter hier in elementaren Stickstoff umgewandelt wurde, was zur Folge hatte, daß die Haferpflanze im Boden über keinen zur Bildung der lebenden Pflanzenmaterie nötigen Stickstoff verfügte. Ich mache auf diese interessante Erscheinung hier besonders aufmerksam, da der Bac. fluorescens liquefaciens nicht jener Gattung von Bakterien angehört, welche Nitrate in Ammoniak überführen,

1) Ein deutlicher Unterschied ergiebt sich, wenn man die Ergebnisse der Versuche der zweiten Gruppe vergleicht, wo die gleiche Menge Phosphorsäure und Stickstoff zur Anwendung kam, der Boden aber uninfiziert blieb. Es wurde hier gewonnen: Körner 213 g, Stroh 260 g.

sondern zu jenen, welche die Reduktion der Nitrate in elementaren Stickstoff bewirken, wie dies in der künftigen Publikation betreffs der „Physiologie der Denitrifikationsprozesse“ klargelegt werden wird.

Zum Schlusse führe ich hier folgende Uebersicht der Erfolge der einzelnen Infektionen an:

	Gewonnen: Körner g	Stroh g
Nicht infiziert. Knochenmehl	161,32	213,81
„ „ Superphosphat und Chilisalpeter	213,98	260,13
Bac. megatherium. Knochenmehl ohne Glukose	246,79	267,85
„ „ „ und „	285,88	306,11
„ „ „ und Xylose	320,52	398,04
„ mesentericus vulgat. Knochenmehl und Glukose	283,21	353,77
„ mycoides. Knochenmehl und Glukose	263,66	350,20
„ proteus vulgaris. Knochenmehl und Glukose	235,26	289,03
„ butyricus. Knochenmehl und Glukose	230,79	285,99
„ fluorescens liquefac. Knochenmehl und Glukose	165,26	272,26

Aus diesen Zahlen geht hervor, daß jede Bakterienspecies einen eigenen Charakter in Bezug auf die Zersetzung von Knochenmehl besitzt und daß auch die Anwesenheit verschiedener Kohlenhydrate einen bedeutenden Einfluß auf die Vitalprozesse der Mikroben im Boden ausübt[1]. Man kann hier als Beispiel nur auf die Versuche mit Alinitbacillus (Bac. megatherium) hinweisen. Bei Gegenwart von Knochenmehl ohne Kohlenhydrate betrug der Ertrag an Körnern 246 g und an Stroh 268 g; wurde aber Glukose zugesetzt, so stieg der Ertrag an Körnern auf 286 g und an Stroh auf 306 g; schließlich, bei Gegenwart von Xylose, belief sich der Ertrag an Körnern auf 320 g und an Stroh auf 398 g. Man sieht hier den unverkennbaren Einfluß der Kohlenhydrate, namentlich aus der Reihe der Pentosen, auf die ganze Mikrobenthätigkeit.

Unsere Studie eröffnet uns wohl eine sehr interessante Perspektive in die verschiedene Wirksamkeit der Mikroben bei der Zubereitung der Nährstoffe aus der Knochensubstanz für die höher organisierte Pflanzenwelt.

---

1) Der Einfluß der Kohlenhydrate und gewisser organischer Säuren (wie z. B. der Bernsteinsäure, Milchsäure und der Buttersäure) auf die Vitalprozesse der Mikroben ist sehr überraschend und interessant. Bac. Hartlebi unterscheidet in dem Nährmedium genau die Aldose von der Ketose.

Original-Referate aus bakteriologischen und gärungsphysiologischen Instituten, Laboratorien etc.

Nachdruck verboten.

Will, H., Eine Mycoderma-Art und deren Einfluß auf Bier. II. Mitteilung[1]).

In der ersten Mitteilung sind alle diejenigen Untersuchungsergebnisse zusammengestellt, welche für die Praxis Bedeutung haben können. Es handelt sich also wesentlich um die Lebensäußerungen der vorliegenden Mycoderma-Art unter verschiedenen Bedingungen und in verschiedenen Substraten, speziell in Würze und Bier.

Im Folgenden wird wesentlich die allgemeine und spezielle Morphologie behandelt. Außerdem kommen noch einige biologische Beobachtungen zur Mitteilung.

Nach meiner durch Untersuchung zahlreicher Mikroorganismen gewonnenen Anschauung sind für die Diagnose von großer Bedeutung die im Laufe der Zeit auftretenden Veränderungen in der Wachstumsform auf festen Substraten in Einzelkulturen, Plattenkulturen und Riesenkolonieen. Es genügt nicht, die Wachstumsform für einen gegebenen Moment zu beschreiben.

Zur Morphologie der Mycoderma-Zellen.

a. Form und Größe der Zellen in jüngeren und älteren Kulturen.

Die typische Zelle zeigt im optischen Querschnitte ungefähr die Form eines Rechteckes, dessen Ecken abgerundet erscheinen. Abweichungen von diesem Schema finden sich zunächst in der Richtung, daß die ganze Zelle leicht gekrümmt ist. Weiter ist der Verlauf der Zellwände in der Längsrichtung kein paralleler oder nahezu paralleler, auch ist die Formgestaltung der beiden Enden der Zelle meist eine sehr verschiedenartige.

Die Größe der Zellen ist schon in jüngeren Kulturen eine sehr wechselnde. Der Längsdurchmesser schwankt hier zwischen 3 μ und 13 μ, der Querdurchmesser zwischen 2 μ und 6 μ. Die typischen Mycoderma-Zellen sind 8—11 μ (durchschnittl. 9 μ) lang und 5 μ breit.

Ziemlich frühzeitig, vereinzelt schon in 8—9 Tagen alten Kulturen, treten Zellen von einer Länge bis zu 19, ja selbst 25 μ (durchschnittl. 16 μ) und einen Querdurchmesser von 3 μ in der Haut auf.

Reichlicher und in großer Ausdehnung entwickeln sich dieselben in über 4 Monate alten Kulturen. Schon nach etwa 14 Tagen lassen sich in den Häuten 2 Hauptformen von Zellen unterscheiden. Neben den gewöhnlichen Zellen von 8—9 μ Länge und 5 μ Breite finden sich solche, welche bei gleicher Länge nur etwa 4 μ breit sind.

1) Nach Mitteilungen der wissenschaftlichen Station für Brauerei in München. (Zeitschr. f. d. ges. Brauwesen. Bd. XXII. 1900. No. 13—17. Mit 1 Tafel. Vergl. dies. Centralbl. Bd. V. 1899. p. 842.)

Die schlankeren Zellen stellen ein regelmäßiges Entwickelungsglied der Haut dar, welches in älteren Kulturen vorherrschen kann.

In älteren Häuten finden sich nicht selten mehr oder weniger rundliche, derbe Zellen in Nestern vereinigt vor.

In sehr alten Kulturen finden sich auch keulen- oder birnförmige sowie mehr oder weniger dreieckige Zellen vor.

Die Form der Zellen ist also auch bei Mycoderma, ähnlich wie in älteren Hautbildungen der Saccharomyceten, eine sehr mannigfache.

Zuweilen sind die Glieder der Sproßverbände sehr langgestreckter Zellen in größerer Anzahl durch breite Querwände voneinander getrennt, so daß ein Gebilde entsteht, welches in hohem Grade einem septierten Mycel gleicht.

Die Größe der Zellen sowie deren Inhalt wird durch die Zusammensetzung des Substrates und den damit in direktem Zusammenhange stehenden Nährwert desselben sowie durch die Temperatur, bei welcher die Kulturen gehalten werden, beeinflußt, wenngleich in Beziehung auf den Zellinhalt die Unterschiede nicht sehr groß sind und auch bei allen Temperaturgraden gleichmäßig auftreten.

Je niedriger die Temperatur ist, desto kräftiger wachsen die Zellen; sie nähern sich der durchschnittlichen Größe, bleiben jedoch im allgemeinen gedrungener.

Sehr häufig sind ellipsoidische Zellen von 6—7 μ : 3—4 μ Durchmesser. Letztere Zellen heben sich nicht selten durch eine relativ starke Membran und einen stärker lichtbrechenden Inhalt von den gestreckten Zellformen ab. Auch rundliche, Torula-ähnliche Zellen kommen nicht selten vor.

Bei niedriger Temperatur sind die Zellformen mannigfaltiger. Bei höheren Temperaturen (39° C) sind die Zellen auf Würze ohne Zusatz klein, bei Würze mit Zusatz von weinsaurem Ammon und Asparagin jedoch normal.

b. Die Zellhaut.

Meist ist die Membran nicht so dick wie diejenige von Hefezellen. Dagegen unterscheiden sich die in älteren Kulturen auftretenden, derberen Zellen von kurzovaler und fast rundlicher Form durch ihre starke, von einer breiten Kontur umgrenzten Membran von den übrigen Zellen.

Ob es sich bei diesen Zellen um eine besondere Generation von Mycoderma-Zellen handelt, oder ob sie der gleichen Generation wie die übrigen angehören und nur infolge äußerer Einflüsse ihre Form modifizierten und mit zunehmendem Alter die Zellmembran verdickten, muß vorläufig unentschieden bleiben.

Mit Osmiumsäure färbt sich die Zellmembran schwarzbraun. Die Reaktion ist schon an 24 Stunden alten, bei 25° C gehaltenen Kulturen wahrnehmbar.

Bei den meisten Hefenarten beobachtet man eine derartige Färbung nicht.

Das Verhalten der Membran der Mycoderma-Zellen führt zu dem Schlusse, daß in bezw. auf derselben Substanzen abgelagert sind, welche sich wie Fett oder Oel verhalten.

In gleicher Weise wie Mycoderma reagieren die hautbildenden Saccharomyceten aus der Gruppe S. anomalus und S. membranaefaciens auf Osmiumsäure.

Die Zellmembran erscheint also in allen denjenigen Fällen, in welchen die Entwickelung der Sproßpilze in erster Linie auf der Flüssigkeitsoberfläche stattfindet, die Zellen schwer von Wasser benetzbar sind und Luft zwischen sich einschließen bezw. wo die Luft den Zellen adhäriert, eine ähnliche Beschaffenheit zu besitzen, die es denselben wahrscheinlich auch ermöglicht, sich so leicht an der Oberfläche zu halten.

Soweit meine Versuche reichen, scheint die auf Osmiumsäure reagierende Substanz durch Behandlung der Zellen mit Alkohol aus der Membran entfernt werden zu können.

Nicht unwahrscheinlich ist es, daß die Beschaffenheit der von Mycoderma und den genannten Saccharomyceten auf Nährflüssigkeiten entwickelten Häute, sowie deren Färbung zum größten Teile von der Beschaffenheit der Membran und der durch dieselbe bedingten Nebenerscheinungen (Einschluß von Luft oder anderen Gasen zwischen den Zellen) abhängt.

Die Nester der oben erwähnten derberen Zellen mit stärkerer Membran schließen im Gegensatze zu den übrigen Zellen keine oder nur wenig Luft zwischen sich ein.

c. Der Zellinhalt.

Bei der verhältnismäßig sehr geringen Differenz im Lichtbrechungsvermögen zwischen Plasma und Vakuolen sind da, wo kleine Vakuolen in größerer Zahl vorhanden sind, bei 24 Stunden alten Zellen letztere kaum oder nur sehr schwer ohne Zusatz von Reagentien sichtbar.

Durch die Jodreaktion tritt sehr deutlich hervor, wie wenig feste, färbbare Substanz die Zelle enthält.

Stark lichtbrechende Körperchen („Oelkörperchen“), welche in älteren Mycoderma-Zellen scharf hervortreten und wesentlich mit dazu beitragen, demselben das eigentümliche Gepräge zu verleihen, sind noch nicht sichtbar. Nach Zusatz von Jod kommen jedoch schon an denjenigen Stellen, an welchen in den älteren Kulturen stark lichtbrechende Körperchen liegen, stärker gefärbte, dichtere Körnchen zum Vorschein.

In 48 Stunden alten Kulturen sind in einzelnen Zellen die stark lichtbrechenden Körperchen im Plasma auch ohne Reagenz sichtbar; allerdings sind dieselben immer noch klein. Am 3. Tage sind sie in der Mehrzahl der Zellen vorhanden. Meist finden sie sich in der Einzahl bis Dreizahl vor. Bald lagern sie an den Enden der Zelle, bald erscheint eines derselben am Ende, das andere zwischen zwei Vakuolen seitlich oder in der Mitte. Sehr selten finden sich zwei Körperchen nebeneinander.

Diese Körperchen sind immer in das dichtere Plasma der Zellen eingebettet.

Schon nach 48 Stunden tritt mit Jod schwache Glykogenreaktion ein; dieselbe bleibt auch in älteren Kulturen im Vergleich zu Hefe mäßig.

In einem Stadium, in welchem die Vakuolen scharf umgrenzt

sind, liegen in letzteren 1—3 kugelförmige Gebilde von geringem Lichtbrechungsvermögen. Dieselben färben sich mit Jod rotbraun, wie einzelne Partieen des Plasmas, geben also Glykogenreaktion, während die im Plasma eingelagerten Oelkörperchen keine besondere Färbung annehmen.

In sehr alten Zellen färben sich die Vakuoleneinschlüsse mit Jod nur mehr gelb; auf Osmiumsäure reagieren sie nicht.

Die Granulationen in den Vakuolen, welche die Glykogenreaktion geben, scheinen nur Plasmareste zu sein, welche sich bei der Verschmelzung kleiner Vakuolen zu größeren erst nach der Hauptmasse des Plasmas zurückgezogen haben. In den Vakuolen einzelner Zellen aus älteren Kulturen finden sich zuweilen Krystalloide vor.

Die Zellen der auf festem Nährboden gewachsenen Kolonieen zeigen in der Regel die Vakuolen sehr schwer.

Die Oelkörperchen erreichen in sehr alten Kulturen meist eine nicht unbeträchtliche Größe (bis zu 2 μ).

Mit 1-proz. Osmiumsäure färben sich dieselben wie bei anderen Mycoderma-Arten und Mycoderma-ähnlichen Organismen schwarzbraun und zwar ist die Färbung nach dem Alter der Zellen eine verschiedene. Bei alten Zellen ist dieselbe intensiver als bei jüngeren. Mit Jodjodkalium färben sie sich schwach gelb. Durch die Behandlung der Mycoderma-Zellen mit Alkohol verlieren die meisten stark lichtbrechenden Körperchen den starken Glanz. Es bleibt nur mehr ein Gerüst zurück. Mit wässerigen Anilinfarben färben sich die Körperchen zum Teil sehr intensiv.

Sämtliche Beobachtungen lassen also erkennen, daß die stark lichtbrechenden Körperchen, insbesondere die in das Plasma eingebetteten, nicht einheitlich zusammengesetzt sind, sondern daß sie sich in ganz ähnlicher Weise aufbauen, wie diejenigen in Hautzellen alter Hefekulturen [1]).

Es handelt sich also um in Alkohol lösliche Oeltröpfchen, welche in ein Stroma plasmatischer Natur eingebettet sind.

Im Gegensatz zu den Oelkörperchen alter Hefezellen färben sich diejenigen der Mycoderma-Zellen mit konzentrierter Schwefelsäure nicht; das Oel wird, wie dort, aus den Zellen bei Zusatz der Säure entleert.

Ein Austreten des Oeles aus den Mycoderma-Zellen bei Einwirkung von Osmiumsäure, wie es Fischer und Brebeck gesehen haben wollen [2]), konnte niemals beobachtet werden.

---

1) Siehe H. Will, Vergleichende Untersuchungen an vier untergärigen Arten von Bierhefe. V. (Zeitschr. f. d. ges. Brauwesen. Bd. XVIII, 1895. p. 296, insbesondere auch Anmerkung 1.)

2) Zur Morphologie, Biologie und Systematik der Kahmpilze, der Monilia candida Hansen und des Soorerregers. Jena (Gustav Fischer) 1894. p. 9.

(Schluß folgt.)

Referate.

Oppenheimer, Carl, Versuch einer einheitlichen Betrachtung der Fermentprozesse. (Biolog. Centralbl. Bd. XX. 1900. p. 198 ff.)

Die alte Liebig'sche Anschauung sah in enzymatischen und Gärungsvorgängen eine Zersetzung, ausgelöst durch den Kontakt mit dem sich zersetzenden Ferment, einer albuminoiden Substanz, als welche Liebig auch die Hefe auffaßte. Pasteur führte dann die biologische Auffassung und damit die Unterscheidung von geformten und ungeformten Fermenten ein, die, in Frankreich heute noch üblich, bei uns aber seit Hansen unter Streichung des Begriffes Ferment durch die Unterscheidung zwischen enzymatischen einerseits und Gärungsprozessen als Teilen des Stoffwechsels von Mikroorganismen andererseits ersetzt ist. Oppenheimer hält diese Anschauung für überlebt. Selbst praktisch läßt sich zwischen Enzymen und Gärungsorganismen keine Grenze ziehen. Vielfach zeigen Enzyme eine sehr feste Bindung an das Protoplasma. „Während es z. B. unmöglich ist, der gesunden Hefezelle außer Diastase irgend ein Ferment zu entziehen, gelingt dies, wenn man die vitale Energie der Hefezelle, z. B. durch Austrocknen oder durch gewisse Gifte (Chloroform, Toluol) lähmt." Dann giebt sie Maltase und Invertase ab. „Es ist kaum zu entscheiden, ob man diese Fermente, die normalerweise fest an die Hefezelle gebunden sind, zu den „geformten" rechnen darf." Außer diesem Beispiel — die Bier- und Weinhefe bildet wenig Diastase, wohl aber Invertase — führt er Monilia candida an, bei der das invertierende Enzym an die Zelle ganz fest gebunden ist. Die Entscheidung gegen die biologische Auffassung der Fermentprozesse aber liefert nach Oppenheimer Buchner's Entdeckung der Zymase. Er ist der Ueberzeugung, daß man ebenso auch Enzyme der Milchsäuregärung u. s. w. finden wird, und hält es darum für an der Zeit, den biologischen Standpunkt einfach ad acta zu legen und eine rein energetische Auffassung einzuführen. Alle Vorgänge der organischen Welt, in denen aufgehäufte Spannkräfte ausgelöst werden, die exothermal, unter Abgabe von Energie verlaufen, sind fermentativer Natur und dadurch vollständig verschieden von den unter Speicherung von Energie verlaufenden Stoffwechselprozessen. Für seine Unterscheidung ist es nach dem Verf. gleichgiltig, ob man jemals dazu gelangen wird, den Fermentprozeß vom Leben zu trennen oder nicht. Ein Ausblick auf die Ergebnisse der Untersuchungen E. Fischer's über die Spezialisierung der Enzyme macht den Beschluß.

Dem Ref. scheint es, als wenn Oppenheimer's Unterscheidung die biologische Unterscheidung von enzymatischen und Gärungsvorgängen gar nicht trifft. Beide fallen unter das Gebiet der Oppenheimer'schen Fermentprozesse. Wenn Oppenheimer die Vorgänge, bei denen Energie gespeichert wird, allein als Stoffwechsel bezeichnet, also nur einen progressiven Stoffwechsel kennt, so ist

das willkürlich; der Biologe wird ihm darin kaum folgen, sondern wie bisher neben dem progressiven Stoffwechsel einen regressiven kennen. Behrens (Karlsruhe).

Koning, C. J., Der Tabak, Studien über seine Kultur und Biologie. Amsterdam und Leipzig (van Heteren und Engelmann) 1900.

Koning hat sich auf Veranlassung Forster's, dem auch das Buch gewidmet ist, seit 1897 mit dem Studium der Fermentation des Tabaks beschäftigt. Die Ergebnisse desselben sowie die im Anschluß daran unternommenen Untersuchungen über die Mosaikkrankheit des Tabaks werden in dem Werke ausführlich mitgeteilt. Außerdem ist einleitungsweise die Kultur des Tabaks in Holland, die Anatomie und Physiologie der Tabakpflanze und das Trocknen des Tabaks behandelt, so daß das Ganze ein abgerundetes Bild unserer heutigen botanischen Kenntnisse von der Tabakpflanze und ihrem Produkt giebt. Hier interessieren die speziell bakteriologischen und phytopathologischen Abschnitte.

Zum Studium der Fermentation überläßt Verf. zerschnittene und mit sterilem Wasser angefeuchtete dachreife Tabakblätter teils in Luft, teils in Wasserstoff bei 40° C der sich bald einstellenden spontanen Gärung und legt nach Eintritt derselben, was am Geruch erkannt wird, Platten- resp. Röhrenkulturen verschiedener Verdünnung an. Die gefundenen Anaëroben erwiesen sich sämtlich als nur fakultative Anaëroben. Fast nie fehlte Bacillus mycoides und B. subtilis, regelmäßig wurden einige Bakterien aus den Gruppen Subtilis und Proteus gefunden, die Verf. als die Erreger der Tabakfermentation betrachtet und als Bacillus Tabaci I, II u. s. w. bezeichnet. Darunter gehören I, IV und V zur Proteus-, Bacillus III zur Subtilisgruppe. I, II und IV sind obligat aërob und bilden Ammoniak aus Eiweißstoffen, die anderen III und V sind fakultativ anaërob. Als sterilisierter Tabak in Glasschalen mit Reinkulturen der verschiedenen Arten resp. Gemischen von solchen geimpft wurde, zeigten sich deutliche Unterschiede im Aroma des Gärungsproduktes. Von den meisten Sachverständigen wurde der mit einem Gemisch von Bacillus Tabaci I und III vergorene Tabak als bester beurteilt; diese Mischung giebt dem Tabak nach Verf. ein angenehmes honigsüßes Aroma.

Später legte Verf. auch Oberflächenkulturen an durch Ausgießen und Ausstreichen mittels Pinsel, mit dem vorher die Oberfläche eines Blattstückes gekehrt war, und fand die oben mitgeteilte Resultate bestätigt. Bei Versuchen in der Praxis, wo die Blätter natürlich nicht sterilisiert werden können, ergab die Impfung mit Bacillus I und III nicht das gleich günstige Resultat wie im Laboratorium. Als aber weiter holländischer Tabak mit verschiedenen Gemischen von Bacillus I und III und einem neu von fermentierendem Tabak isolierten aëroben Diplococcus Tabaci hollandicus geimpft und dann unter den Verhältnissen der Praxis fermentiert wurde, zeigte sich der geimpfte Tabak nach Beendigung der Gärung dem ungeimpften, spontan vergorenen Kontrolltabak gegenüber entschieden

verbessert. Verf. stellt sich die Wirkung der verschiedenen Bakterienformen bei der Tabakfermentation derart vor, daß zunächst sich die Diplokokken und Bacillus Tabaci I, welche nach Ausfall der Versuche sowohl Aroma wie Brennbarkeit verbessern, entwickeln, und daß, je höher die Temperatur der Stöcke steigt, um so mehr die Diplococcen in den Hintergrund und die verschiedenen Bacillen in alleinige Aktion treten.

Aus Delitabak wurden Stäbchenbakterien, wie Diplococcus und eine Rosahefe isoliert. Ihre Rolle bei der Gärung ist unbekannt, ebenso wie die der Bakterien, welche aus 8 Jahre aufbewahrten Büscheln von Havannatabak sich noch züchten ließen. Auf Holländer Tabak fand Verf. nie Hefen, während Ref. solche auf frischen Tabakblättern bei uns recht häufig antraf.

Bezüglich der Eigenschaften der Gärungsorganismen des Tabaks, von denen indes nur Bacillus I und der Diplococcus eingehender geschildert werden, sei bemerkt, daß Verf. auf mit Tabaksaft versetztem Glukose-Asparagin-Agar einen Pleomorphismus des ersteren beobachtete; es scheint sich jedoch nur um Involutionsformen zu handeln.

Ueber die Mosaikkrankheit hat Beijerinck vor einiger Zeit (dieses Centralblatt, Bd. V. 1899. p. 27) berichtet und die Krankheit dort auf ein Contagium vivum fluidum zurückgeführt. Verf. des vorliegenden Werkes bestätigt die bereits Ad. Mayer bekannte große Ansteckungsfähigkeit des Saftes mosaikkranker Pflanzen sowie die Durchlässigkeit von Chamberlandfiltern für den Ansteckungsstoff; er ist aber, wohl mit Recht, der Meinung, daß es sich nicht um ein Contagium vivum fluidum, sondern um pathogene Organismen handelt, welche, ähnlich wie die der Maul- und Klauenseuche, so klein sind, daß sie unsern optischen Hilfsmitteln entgehen müssen und die Poren der Porzellanfilter passieren können. Wiederholte Filtration durch Chamberlandkerzen schwächte denn auch die Ansteckungsfähigkeit und hob sie endlich auf. Glycerin und Alkohol vernichten die Ansteckungsfähigkeit ebenfalls. Erwärmen auf 100° (5 Minuten) schwächte wohl das Gift, hob aber die Giftigkeit nicht auf. Kühle Witterung hindert das Auftreten der Mosaikkrankheit an infizierten Pflanzen, bringt sogar bereits erkrankte Pflanzen wieder zu normaler grüner Farbe und gutem Gedeihen. Durch Düngung mit Aetzkalk konnte das Wiederauftreten der Krankheit auf einem Feld, das alljährlich an ihr zu leiden pflegte, ganz wesentlich eingeschränkt werden [1]).

Die Beobachtungen des Verf. sind allerdings nicht erschöpfend, speziell die Frage nach der Ursache der Mosaikkrankheit wird nicht vollständig geklärt, wie das aber auch auf einem so schwierigen Gebiete kaum anders zu erwarten war. Doch begrüßen wir in dem Werke einen wesentlichen Fortschritt unseres Wissens von der Tabakpflanze. Leider wird die Lektüre durch manche sprachliche Mängel sowie besonders durch den Umstand etwas erschwert, daß Verf. die Darstellung seiner Ergebnisse in erster Linie nach der Zeit, zu der sie gewonnen wurden, und erst in zweiter nach dem Gegenstande ordnet. Es fehlen selbst Widersprüche zwischen den Untersuchungs-

1) Vergl. das Referat p. 27 dieses Centralblattes.

ergebnissen der ersten und der folgenden Zeit nicht. So wird p. 33 angegeben, daß auf Malzgelatine ein pathogenes Microbium isoliert werden konnte, während p. 74 erst der wahre Sachverhalt zur Darstellung gelangt. Behrens (Karlsruhe).

Marmier, Louis, Le rouissage du Lin. Miscellanées biologiques dédiées au prof. Giard. Paris 1899. p. 440.

Die beim „Rösten" des Flachses sich bethätigenden Bakterien sind aërob. Die Pektose der Zellmembranen wird von ihnen zu Calciumpektat umgewandelt. Küster (Halle a. S.).

Dietel, P., Uredineae japonicae. I. (Engler's Jahrb. Bd. XXVII. 1899. p. 564. Mit Taf. VII.)

Während bisher nur wenige Vertreter der Uredineenflora Japans bekannt waren, wurde durch Miyoshi und Kusano eine reiche Kollektion dieser interessanten Pilze zusammengebracht und von Dietel bearbeitet. Ganz abgesehen von interessanten systematischen Ergebnissen konnte Dietel auch zu den Floren anderer Länder Beziehungen feststellen.

Es ergiebt sich einmal eine enge Beziehung zu den Uredineen des Himalaya. Nicht bloß einzelne Arten sind trotz der weiten räumlichen Trennung beider Florengebiete identisch (z. B. Pucciniostele Clarkiana, Puccinia Eulaliae), sondern auch nächst verwandte Arten kommen mehrfach vor (z. B. Phakopsora Ampelopsidis und punctiformis, Puccinia Miyoshiana und Polliniae). Diese merkwürdige Aehnlichkeit der Uredineenfloren erklärt sich nach Verf. wahrscheinlich dadurch, daß die Nährpflanzen zur Tertiärzeit leicht von den nördlichen Teilen Asiens nach Süden wandern konnten, da die Wüste Golei von Wasser bedeckt war.

Andererseits weisen von Japan deutliche Beziehungen zu Nordamerika hinüber. Identische und nächst verwandte Arten sind in Japan und Nordamerika zu finden. Auch hier liegt die Erklärung nahe, daß zur Tertiärzeit eine Wanderung über die noch jetzt durch die Aleuten angedeutete Landbrücke stattgefunden hat. Am merkwürdigsten erscheint die Thatsache, daß ostasiatische Gattungen (Pucciniostele, Stichopsora, Coleopuccinia) mit einigen nur in Südamerika verbreiteten Gattungen eine Verwandtschaftsgruppe bilden. Ueber diese Verhältnisse sind noch nähere Aufklärungen notwendig, da eine Erklärung für diese eigentümliche Uebereinstimmung vorläufig nicht gegeben werden kann.

Die neuen Arten sind folgende:

Puccinostele Clarkiana (Barcl.) Diet. Die von Tranzschel und Komarow neu aufgestellte Gattung besitzt Pykniden und völlig nackte Aecidien. Die Teleutosporen sind über Kreuz 4-zellig und werden in Reihen gebildet.

Stichopsora Asterum Diet. Die hier zum ersten Male beschriebene Gattung gehört in die Verwandtschaft von Coleosporium. Während bei letzterer Gattung die Teleutosporen im Sorus in einschichtiger Lage stehen, enthält das Lager von Stichopsora 2 übereinanderliegende Schichten von 4-zelligen Teleutosporen.

Sonst sind neu: Coleosporium Clerodendri auf Clerodendron trichotomum, Pucciniastrum filicum auf Aspidium und Asplenium, Phragmidium japonicum auf Rosa multiflora, Puccinia Kusanoi auf Arundinaria, P. Miyoshiana auf Eulalia cotulifera, Uromyces Klugkistianus auf Rhus semialata var. Osbeckii, Aecidium Dispori auf Disporum sessile, A. Ainsliaeae auf Ainsliaea acerifolia, A. Hamamelidis auf Hamamelis japonica, Peridermium Pini-Thunbergii auf Pinus Thunbergii.

Lindau (Berlin).

Iwanoff, K. S., Die parasitischen Pilze im Gouvernement Tiflis (Kaukasus). (Zeitschr. f. Pflanzenkrankh. 1899. p. 356.)

Nach einer russisch geschriebenen Arbeit von Speschneff über die Pilzflora des Kaukasus giebt Verf. eine Uebersicht über die auf Kulturpflanzen auftretenden Schädlinge.

Davon beanspruchen die nachfolgend Genannten eine größere Bedeutung.

Phytophthora infestans ist häufig auf Kartoffeln und Tomaten. Peronospora viticola, Oidium Tuckeri, Coniothyrium diplodiella schädigen die Weinkultur beträchtlich. Daneben wurde eine Krankheit beobachtet, die der von Roesleria hypogaea erzeugten sehr ähnlich war. Bremia Lactucae auf Salat. Ustilago carbo vernichtete 1896 fast $^3/_4$ der Weizenernte, daneben kommt Tilletia Caries und Puccinia graminis recht häufig vor. Auf Mais ist Ustilago Maydis und Puccinia Maydis anzutreffen. Phragmidium subcorticium auf kultivierten Rosen häufig. Hypochnus Cucumeris trat 1896 auf den Gurken auf. Polyporus sulphureus, P. fomentarius und Agaricus melleus verursachen die bekannten Krankheiten an Waldbäumen. Exoascus deformans trat 4 Jahre hintereinander verheerend auf den Pfirsichbäumen auf. Gegen Sphaerotheca pannosa auf Rosen und Pfirsichbäumen half Bordelaiser Brühe sehr gut, dasselbe Mittel bewährte sich auch gegen Sphaerella Fragariae. Sporidesmium Amygdalearum beschädigt die Aprikosen. Fusicladium dendriticum und pirinum kommen häufig auf Apfel- und Birnbäumen vor. Cercospora moricola tritt auf Morus alba und nigra, Cercospora Bolleana auf den Feigenbäumen auf. Cercospora circumscissa findet sich auf Pflaumen- und Mandelbäumen. Cylindrosporium Phaseoli verwüstete 1896 die Bohnenkulturen. Monilia fructigena entwickelt sich auf vielen Früchten. Dematophora necatrix schädigt den Wein und verschiedene Fruchtbäume. Gloeosporium ampelophagum ist auf dem Wein häufig. Gloeosporium Lindemuthianum vernichtete oft die ganze Bohnenernte. Polystigma rubrum und Gnomonia erythrostroma auf Pflaumen- und Kirschbäumen ist ebenfalls nicht selten. Claviceps purpurea tritt oft massenhaft auf. Als neue Art wird Coniothecium syringae Spesch. auf Syringa vulgaris aufgestellt.

Lindau (Berlin).

Reuter, E., In Norwegen im Jahre 1897 aufgetretene Krankheitserscheinungen. (Zeitschr. f. Pflanzenkrankh. 1899. p. 301.)

Nach einem Bericht von Schöyen stellt Verf. die 1897 in Norwegen beobachteten Krankheitsfälle zusammen. Hauptsächlich sind es Krankheiten, die von Insekten verursacht werden.

Auf dem Getreide traten Hydrellia griseola und Oscinis frit auf, namentlich wurden die Gerstenäcker beschädigt. Auf Winterweizen zeigte sich Puccinia rubigo-vera, auch Ustilago Avenae wurde beobachtet.

Auf Wiesengräsern traten die Raupe von Charaeas graminis massenhaft auf, außerdem fanden sich Adimonia tanaceti, die Thimotheefliege und andere.

Die Erbsen wurden namentlich durch Thrips cerealium beschädigt. Auf dem Kohl wurden eine ganze Anzahl von Schädlingen beobachtet, so Agrotis-Arten, Anthomyia Brassicae, Pieris Brassicae, Eurydena oleraceum u. a. Auch Plasmodiophora Brassicae wurden stellenweise beobachtet. Besonders merkwürdig ist die Beobachtung, daß Treibhauspflanzen von Milben (Uropoda vegetans) angegriffen und abgetötet werden.

Die Obstbäume hatten von vielen schädlichen Insekten zu leiden. Auf Apfelbäumen traten Cantharis obscura, Phyllopertha horticola, Psylla mali, Schildläuse u. a. auf. Die Birnen wurden durch Eriocampa adumbrata, sowie durch Wespen geschädigt. Monilia fructigena fand sich nicht selten an den Apfel- und Kirschbäumen. Die Pflaumenbäume hatten von Exoascus Pruni zu leiden.

Johannis- und Stachelbeeren wurden von Nematus ribesii, Aphis ribis, Zophodia convolutella, sowie von Septoria Grossulariae heimgesucht.

An Laub- und Nadelhölzern wurden namentlich Raupen beobachtet.

Auch Zierpflanzen wurden beschädigt, hauptsächlich durch Wanzen. Lindau (Berlin).

Koch, Herm., Die Düngung in Feld-Gurkenbau. (Dtsch. landw. Presse. 1900. 17. März.)

In diesem Artikel wird darauf hingewiesen, daß die übliche Stalldüngung von 400 Centner Pferdedung pro Morgen, die man den Gurken giebt, eine einseitige Ueberladung mit Stickstoff sei, wodurch die Gurkenpflanzen zu üppiger Ranken- und Blattbildung unter Beeinträchtigung des Fruchtansatzes getrieben werden und daß als steter Begleiter solcher kranken Gurkenfelder auch die Fleckenkrankheit der Früchte, durch Gloeosporium reticulatum veranlaßt, auftrete, deren Bekämpfung in der Gegend des Verf.'s (Calbe a. S.) ohne nennenswerte Erfolge gewesen sei. Verf. hat nun vergleichende Versuche gemacht, z. B. mit 200 Centner reinem Pferdedung und mit 150 Centner Pferdedung zusammen mit 1—1½ Centner Superphosphat. Dabei ergab sich auf der ersteren Parzelle eine starke Entwickelung der Fleckenkrankheit, auf der letzteren bei weniger geilem Wachstum eine gesunde Fruchtbildung. Frank (Berlin).

Paddock, Wendell, Der Krebs der Apfelbäume in New York. (Bull. N. Y. Agric. Exp. Stat. 163. p. 179—206. Taf. I—V. Bericht: West N. Y. Hort. Soc. 44.)

Wendell Paddock hielt einen Vortrag, in dem er die Geschichte des Apfelbaumkrebses in New York darstellte; in einem späteren Aufsatze gab er einen vollständigen Bericht über diese Krankheit. Der echte Krebs, wie er bei europäischen Pflanzenkrankheiten vorkommt, wird durch eine Species von Nectria verursacht. Es scheint, daß im Jahre 1898 in der Nachbarschaft von Bloomfield, N. Y., eine ernste Erkrankung von Obstbäumen auftrat, von denen viele abstarben. Bei vorläufiger Untersuchung des Krebses wurden gewisse dunkelfarbige Sporen gefunden, die man damals als von dem Saprophyten herrührend betrachtete. Dann wurden von der kranken Rinde Plattenkulturen gemacht, indem man von der inneren Rinde Teilchen mit sterilen Instrumenten entnahm. Es zeigten sich zwei Formen von Pilzen. Der eine erwies sich als Schizophyllum commune, der andere als eine Sphaeropsis. Es wurde nachgewiesen, daß der erstere nicht in die lebendige Apfelbaumrinde eindringen kann und daß dasselbe für die Rinde des Birnbaumes gilt. Sphaeropsis malorum ist die Ursache der Schwarzfäule der Aepfel. Dann sagt der Verf. folgendes über die Kulturen des Pilzes: „Reife Aepfel wurden mit den Kulturen in Proberöhren geimpft, die von krebsigen Apfelbaumzweigen erhalten worden waren. Nach 24 Stunden war um die Impfstellen Zerfall eingetreten und nach 16 Tagen fanden sich Pycnidien und reife Sporen von Sphaeropsis an allen geimpften Aepfeln. Die Kontrolläpfel, die angestochen, aber nicht geimpft und auf gleiche Weise aufbewahrt worden waren, blieben gesund. Dieses Experiment wurde mehrmals, immer mit demselben Erfolg, wiederholt.

Wenn man sich einem kranken Baume nähert, wird die Aufmerksamkeit durch die dunkle Farbe und die Verdickung der stärkeren Aeste angezogen. Nähere Untersuchung zeigt, daß die Rinde stark gerunzelt und verdickt und in vielen Fällen ein Teil des Holzes entblößt ist. Der Zerfall von Holz und Rinde bietet Bohrwürmern und Pilzen einen passenden Wohnplatz dar, die den Schaden vergrößern und das schlechte Aussehen vermehren. An vielen kranken Aesten hängt die kranke Rinde sehr fest an dem zerfallenden Holze. Dadurch unterscheidet sich dieser Krebs vom Sonnenbrand, denn bei diesem besteht gewöhnlich das erste Symptom in dem Ablösen der Rinde von der beschädigten Oberfläche. Die Fläche des entblößten Holzes ist oft klein im Vergleich zu der Ausdehnung der geschwollenen Rinde; oft sieht man Aeste, die auf eine Strecke von 6 Fuß oder mehr mit rauher Rinde bedeckt sind. Der Fortschritt der Krankheit an solchen Aesten kann mehrere Löcher oder Schorfe aufweisen, wo der Pilz leben konnte, bis er zufällig durch eine Beschädigung in das Cambium eindringen konnte, worauf eine ernste Wunde folgte. Diese Schorfe sind gewöhnlich von kreisförmiger Gestalt und können von zwei oder mehr Umrißlinien umgeben sein.“ Die Infektion findet im Frühjahr statt, wie man an dem Wachstum des Pilzes in der Rinde sieht. Die Gegenwart des Pilzes an einem

vor kurzem infizierten Aste wird zuerst durch eine kleine Stelle von entfärbter Rinde angezeigt.

Da Kulturen der Sphaeropsis von verschiedenen Wirten Schwarzfäule auf Früchten hervorbringen, von den einen anscheinend sowohl wie von den anderen, konnte man erwarten, daß die verschiedenen Kulturen ein ähnliches Wachstum zeigen würden, wenn sie wieder auf Bäume übertragen würden. Daher wurden Aepfel-, Birnen-, Pflaumen-, Kirschen- und Quittenbäume auf ein Beet im Stationsgarten gepflanzt, um Impfversuche anzustellen. Die Inokulation wurde ausgeführt, indem man mit einem vorher erhitzten Messer leichte Einschnitte in die Rinde machte und etwas von den Reinkulturen des Pilzes aus den Proberöhren zwischen Rinde und Holz einbrachte. Dann wurde die Wunde mit Pfropfwachs bedeckt. Diese Arbeit wurde am letzten Mai und 1. Juni ausgeführt.

L. H. Pammel (Jowa).

Osterwalder, A., Eine epidemische Erkrankung von Gloxinien, verursacht durch eine Anguillula. (Zeitschr. f. Pflanzenkrankh. 1899. p. 262.)

In Winterthur erkrankten mehrere Jahre hintereinander die Gloxinien kurz vor der Blütenperiode. Die Pflanzen waren bis dahin ganz gesund und starben plötzlich ab. Auf der Unterseite der Blätter zeigten sich kleine gelbliche, später braun werdende Flecken, die sich schnell über das ganze Blatt verbreiten. In den Flecken konnte kein Mycel nachgewiesen werden, wohl aber werden Anguillula gefunden, die wahrscheinlich die Krankheit verursachen. Nähere Untersuchungen darüber werden in Aussicht gestellt.

Lindau (Berlin).

Reh, Einige schädliche Garteninsekten in Amerika. (Zeitschr. f. Pflanzenkrankh. 1899. p. 295.)

Nach einer Arbeit von Chittenden (U. S. Dept. Agric. Div. Entom. Bull. No. 19) bespricht Verf. die schädlichen Garteninsekten von Nordamerika und ihre Bekämpfung.

Von Heteropteren sind den Cucurbitaceen 4 Arten gefährlich. Anasa tristis und armigera stechen die Ranken an, während Leptoglossus oppositus und phyllopus die Blätter aussaugen. Spritzmittel helfen nicht, dagegen ist die Bestreuung mit Gips, der mit Petroleum getränkt ist, vorteilhaft. Die letztgenannte Art kann durch ihre Nährpflanze, eine Distelart, eingefangen werden. Halticus uheleri saugt die Kartoffelblätter an und wird am besten durch Bespritzen mit Petroleumemulsion bekämpft.

Von Schmetterlingsraupen sind die von Margaronia nitidalis und hyalinata den Cucurbitaceen gefährlich. Sie lassen sich in der Jugend durch Pariser Grün vernichten. Dasselbe Mittel hilft auch gegen die Raupen von Hellula undalis, die die Kohlköpfe ausfressen. Gegen die Raupen der Melittia satyriniformis, die an den Gurken sitzen, helfen nur allgemeine Maßregeln.

Von Käfern sind folgende wichtig. Epicoerus imbricatus

frißt die Erdbeeren ab. Die Bekämpfung geschieht durch arsenhaltige Spritzmittel. Epilachna borealis befällt hauptsächlich Cucurbitaceen, die Larven nagen die Unterseite, die Käfer die Oberseite der Blätter ab. Auch gegen diesen Schädling helfen arsenhaltige Spritzmittel. Gegen die Erdflöhe erwiesen sich neben Tabaksstaub besonders wirksam Holzasche, Pariser Grün und Bordelaiser Brühe. Galerucella cavicollis, Nodonota tristis und puncticollis kommen an Obstbäumen vor; Bespritzen mit Arsenmitteln und Abklopfen wird empfohlen. Die Larve von Lachnosterna arcuata frißt Erdbeer- und Rebenwurzeln, während der Käfer Ahornblätter bevorzugt. Gegen erstere helfen Mineraldünger und das Hausgeflügel, letztere dagegen lassen sich durch Licht anlocken und fangen. Scolytus rugulosus greift auch gesunde Obstbaumstämme an; das Bestreichen mit Petroleum tötet ihn in älteren Stämmen ab.

Die übrigen genannten Arten sind weniger wichtig.

Lindau (Berlin).

Fuchs, F., Ueber einige neue forstschädliche Tipulidenarten. (Forstwirtschaftliches Centralbl. 22. Jahrg. 1900. p. 134—138.)

Obwohl es wahrscheinlich ist, daß die Larven der verschiedensten Tipula-Arten forst- und landwirtschaftlich schädlich werden, sind bis jetzt nur ganz wenige Arten der Thäterschaft überführt worden. Eine Erweiterung der bisherigen Kenntnisse geschieht in der vorliegenden Mitteilung über die Zucht der 4 Arten Tipula scripta Mg., T. marginata Mg., Pachyotina iridicolor Sch. und P. quadrifaria Mg. aus einjährigen Fichtenpflänzchen von Langheim in Oberfranken, an die sie wahrscheinlich mit humoser Düngererde herangebracht worden waren. Die Pflanzen waren sämtlich in typischer Weise oberirdisch unter dem Nadelansatz auf ca. 10—15 mm ihrer Rinde und des Bastes beraubt. Am meisten schien die letzte Art geschadet zu haben, da sie am zahlreichsten (60 Proz. der Gesamtzahl) auftrat. Larven derselben brachten ferner zu München Keimlinge der verschiedensten Pflanzen, sowohl Laubwie Nadelhölzer, und zwar zumeist Exoten, zum Absterben, indem sie dieselben unterirdisch durchbissen, sonst aber in keiner Weise verletzten. Arnold Jacobi (Berlin).

Smith, J. B., The apple plant louse. (New Jersey Stat. Bull. 143. p. 23. fig. 32.)

Das Ausschlüpfen der Larven von Aphis mali aus dem Ei findet gleichzeitig mit der Anschwellung der Blattknospen im Frühling statt. Ungefähr 15 Tage nachher wird die Stammmutter reif und pflanzt sich fort. Nach 9 oder 10 Tagen wird die zweite Generation reif, wovon $^3/_4$ beflügelt sind. Ungefähr 2 Wochen später kommt die dritte Generation zur Reife, wovon kaum die Hälfte beflügelt ist. In der ganzen Jahreszeit giebt es 7 Generationen von parthenogenetischen Weibchen, wovon nur die zweite und dritte beflügelte Exemplare zeigen. Alle 7 Generationen können

voneinander durch charakteristische Eigentümlichkeiten leicht unterschieden werden. Die beflügelten Individuen verlassen die Bäume, auf denen sie sich entwickelt haben, fliegen auf andere Apfelbäume und dabei wird die Species während des Sommers sehr weit verbreitet. Das Auftreten von geschlechtlichen Individuen findet im Oktober statt und die Eier werden bald nachher abgesetzt.

Gegen Angriffe von Aphis mali sind folgende Heilmittel anzuwenden: Petroleumemulsion in 12 Teilen Wasser gelöst; eine aus 5 Teilen Petroleum und 95 Teilen Wasser bestehende Mischung; 2 kg Fischölseife in 100 l Wasser gelöst; 1 kg Tabakslaugenextrakt in 17 l Wasser gelöst. Verf. empfiehlt auch Räucherung mit Blausäure. E. V. Wilcox (Washington).

Entwickelungshemmung und Vernichtung der Bakterien etc.

Mohr, K., Ueber die Kupferkalkbrühe als Cryptogamicid. (Zeitschr. f. Pflanzenkrankh. 1899. p. 346.)

Das Bespritzen der von Peronospora viticola befallenen Reben hat unzweifelhafte Erfolge aufzuweisen, dagegen schädigt die Bordelaiser Brühe nicht das Oidium Tuckeri. Dasselbe wuchert vielmehr unter dem Kupferniederschlag ungehindert weiter. Auch Peronospora Viciae erleidet keine Schädigung. Fusicladium dendriticum wie auch F. pyrinum wurden nicht unterdrückt, sondern wuchsen unter dem Niederschlage weiter.

Ein Uebelstand der Bordelaiser Brühe ist noch besonders hervorzuheben. Der sich bildende Niederschlag ist zuerst amorph, wird aber später krystallinisch. Je weiter die Krystallisation fortschreitet, um so unwirksamer wird das Mittel. Lindau (Berlin).

Neue Litteratur,

zusammengestellt von

San.-Rat Dr. Arthur Würzburg,

Bibliothekar im Kaiserl. Gesundheitsamte in Berlin.

Allgemeines über Bakterien und Parasiten.

Graham, H. G., Microbes. What are they? (New York med. Journ. 1900. No. 22. p. 845—849.)

Untersuchungsmethoden, Instrumente etc.

Horton, E. G., An explanation of results obtained in chemical and bacteriological analyses. (Ohio sanit. bullet. Vol. IV. 1900. No. 1/2. p. 49—58.)

Jaehn, Ein neuer Dampf-Sterilisationsapparat. (Dtsche militärärztl. Ztschr. 1900. Heft 7. p. 391—394.)

Klein, A., Eine neue mikroskopische Zählungsmethode der Bakterien. (Centralbl. f. Bakteriol. etc. I. Abt. Bd. XXVII. 1900. No. 24. p. 834—835.)

Oméliansky, V., Sur la culture des organismes nitrificateurs du sol. (Annal. agronom. 1900. No. 6. p. 295—299.)

Zettnow, Romanowski's Färbung bei Bakterien. (Centralbl. f. Bakteriol. etc. I. Abt. Bd. XXVII. 1900. No. 22/23. p. 803—805.)

Systematik, Morphologie und Biologie.

Aso, K., The chemical composition of the spores of Aspergillus oryzae. (Bullet. of the college of agricult., Tokyo imper. univers. Vol. IV. 1900. No. 1. p. 81—96.)

Barker, B. T. P., A fragrant „mycoderma" yeast, Saccharomyces anomalus (Hansen). (Annals of botany. 1900. June. p. 215—244.)

Blanchard, R., Notes de parasitologie sino-japonaise. (Arch. de parasitol. T. III. 1900. No. 1. p. 5—33.)

Dangeard, P. A., Note sur un nouveau parasite des amibes. (Botaniste. 1900. p. 85—87.)

Fauna Hawaiiensis. Vol. II. Part 4: Mollusca by **E. R. Sykes**. — Erdworms by **C. E. Beddard**. — Entozoa by **A. E. Shipley**. Fol. London (C. J. Clay & Sons) 1900. 1 £ 8 sh.

Galli-Valerio, B., Sur les puces d'Arvicola nivalis. (Arch. de parasitol. T. III. 1900. No. 1. p. 96—101.)

Heinze, B., Zur Morphologie und Physiologie einer Mycoderma-Art (Mycoderma cucumerina Aderh.). (Landwirtschaftl. Jahrb. Bd. XXIX. 1900. Heft 3. p. 427—466.)

Houston, A. C., Weitere Notiz über vier aus dem Schlamme der Themse isolierte Mikroorganismen, die dem Bacillus typhosus ähnlich sind. (Centralbl. f. Bakteriol. etc. I. Abt. Bd. XXVII. 1900. No. 25. p. 853—857.)

Koningsberger, J. C., Onderzoekingen betreffende de teken (Ixodidae) van Nederlandsch-Indië. 8°. 8 p. Batavia (G. Kolff & Co.) 1900.

Léger, L., Sur le genre Eimeria. (Compt. rend. de la soc. de biol. 1900. No. 22. p. 575—577.)

— —, Le genre Eimeria et la classification des coccidies. (Ibid. p. 576—577.)

Loew, O., A new enzyme of general occurrence in organisms. [A preliminary note.] (Science. N. S. Vol. XI. 1900. No. 279. p. 701—702.)

de Magalhães, P. S., Notes d'helminthologie brésilienne. (Arch. de parasitol. T. III. 1900. No. 1. p. 34—69.)

Malfitano, G., Sur la protéase de l'aspergillus niger. [II. mémoire.] (Annal. de l'Instit. Pasteur. 1900. No. 6. p. 420—448.)

Marx, H. u. **Woithe, F.**, Ueber einen neuen farbstoffbildenden Bacillus. (Centralbl. f. Bakteriol. etc. I. Abt. Bd. XXVII. 1900. No. 25. p. 862—863.)

Mesnil, F., Sur la conservation du nom générique Eimeria et la classification des coccidies. (Compt. rend. de la soc. de biol. 1900. No. 23. p. 603—604.)

Metchnikoff, E., Sur les cytotoxines. (Annal. de l'Instit. Pasteur. 1900. No. 6. p. 369—377.)

Mingazzini, P., Nuove ricerche sulle cisti degli elminti. (Arch. de parasitol. T. III. 1900. No. 1. p. 134—162.)

Oppenheimer, C., Die Fermente und ihre Wirkungen. gr. 8°. VIII, 350 p. Leipzig (F. C. W. Vogel) 1900. 10 M.

Wager, H., On the fertilization of peronospora parasitica. (Annals of botany. 1900. June. p. 263—279.)

Wolff, A., Zur Reduktionsfähigkeit der Bakterien. [Vorl. Mitteil.] (Centralbl. f. Bakteriol. etc. I. Abt. Bd. XXVII. 1900. No. 25. p. 849—852.)

Zeitler, R., Schleimpilze oder Pilztiere, Myxomycetes resp. Mycetozoa. (Natur. 1900. No. 20. p. 235—236.)

Beziehungen der Bakterien und Parasiten zur unbelebten Natur.

Boden.

Godlewski, Influence de l'acide carbonique gazeux sur la nitrification. (Annal. agronom. 1900. No. 6. p. 309—312.)

Luft und Wasser.

Delorme, E., Désinfection des puits par le permanganate de potasse. (Bullet. de l'acad. de méd. 1900. No. 25. p. 643—648.)

Kabrhel, G., Theorie und Praxis der Trinkwasserbeurteilung. gr. 8°. VII, 234 p. München (Oldenbourg) 1900. 5 M.

Nahrungs- und Genußmittel, Gebrauchsgegenstände.

Fleisch.

Römer, P., Ein Beitrag zur Aetiologie des Botulismus. (Centralbl. f. Bakteriol. etc I. Abt. Bd. XXVII. 1900. No. 25. p. 857—862.)

Milch, Molkerei.

v. Bühler, Neuester Milchhochdruckpasteur und Regenerativerhitzer der Vereinigten Sterilisatorwerke Kleemann & Co., G. m. b. H., Berlin. (Ztschr. f. Fleisch- u. Milchhygiene. 1900. Heft 10. p. 202—206.)

Dunbar u. Dreyer, W., Untersuchungen über das Verhalten der Milchbakterien im Milchthermophor. (Dtsche med. Wchschr. 1900. No. 26. p. 413—416.)

Ritz, Ein Beitrag zu den Ursachen der vorzeitigen Gerinnung der Milch. (Ztschr. f. Fleisch- u. Milchhygiene. 1900. Heft 10. p. 207—208.)

Beziehungen der Bakterien und Parasiten zu Pflanzen.

Harmlose Bakterien und Parasiten.

Burchardt, O., Wann und wie ist das Nitragin vom Landwirt anzuwenden, um eine Steigerung des Ertrages seiner Leguminosen zu erzielen? (Landwirtschaftl. Wchbl. f. Schleswig-Holstein. 1900. No. 25. p. 441—443.)

Krankheitserregende Bakterien und Parasiten.

Fernald, H. T. and **Hinds, W. E.**, The grass thrips. Treatment for thrips in greenhouses. (Hatch exper. stat. of the Massachusetts agricult. college. 1900. Bullet. No. 67.) 8⁰. 12 p. Amherst, Mass. 1900.

Hartig, R., Beiträge zur Kenntnis des Eichenwurzeltöters (Rosellinia quercina m.). (Centralbl. f. d. ges. Forstwesen. 1900. Heft 6. p. 243—250.)

Rostrup, E, Oversigt over Landbrugsplanternes Sygdomme i 1898. (Tidsskr. f. Landbrugets Planteavl. 1900. p. 38—56.)

Zehntner, L., De riet-schorskever. Xyleborus perforans Wollaston. (Overgedr. uit h. Arch. v. de Java-Suikerindustrie. 1900. Aflev. 9. — Mededeel. v. h. proefstat. v. Suikerriet in West-Java. Kagok-Tegal 1900. No. 44.) 4⁰. 21 p. Soerabaia (H. van Ingen) 1900.

Inhalt.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.

CENTRALBLATT
für
Bakteriologie, Parasitenkunde u. Infektionskrankheiten.
Zweite Abteilung:
Allgemeine, landwirtschaftlich-technologische Bakteriologie, Gärungsphysiologie, Pflanzenpathologie und Pflanzenschutz.

In Verbindung mit
Prof. Dr. **Adametz** in Wien, Prof. Dr. **J. Behrens** in Karlsruhe i. B., Prof. Dr. **M. W. Beijerinck** in Delft, Geh. Regierungsrat Prof. Dr. **A. B. Frank** in Berlin, Dr. **v. Freudenreich** in Bern, Privatdocent Dr. **Lindau** in Berlin, Prof. Dr. **Lindner** in Berlin, Dr. **Morris**, Chef des Hansen-Laboratory, Jenner-Institute of Preventive Medicine in London, Prof. Dr. **Müller-Thurgau** in Wädensweil, Dr. **Erwin F. Smith** in Washington, D. C., U. S. A., Prof. Dr. **Stutzer** in Breslau, Prof. Dr. **Wehmer** in Hannover, Prof. Dr. **Weigmann** in Kiel und Prof. Dr. **Winogradsky** in St. Petersburg
herausgegeben von
Dr. O. Uhlworm in Cassel
und
Prof. Dr. Emil Christian Hansen in Kopenhagen.

Verlag von Gustav Fischer in Jena.

VI. Bd. **Jena**, den 30. September 1900. **No. 18.**

Jährlich erscheinen 26 Nummern. Preis für den Band (Jahrgang) 20 Mark.
Preis für eine einfache Nummer 75 Pfg., für eine Doppelnummer 1 Mark 50 Pfg.
Nummern mit Tafeln kosten für jede Tafel 50 Pfg. mehr.
Hierzu als regelmäßige Beilage die Inhaltsübersichten der I. Abteilung des Centralblattes.

Wünsche wegen Lieferung von besonderen Abdrücken wollen die Herren Mitarbeiter auf die Manuskripte schreiben oder bei Rücksendung der ersten Korrekturabzüge der Verlagsbuchhandlung mitteilen.

Original-Mitteilungen.

Bemerkungen über den Bau und Entwickelung der Bakterien[1]).

Von Prof. Dr. **F. Vejdovský** in Prag.

Mit 1 Tafel.

Bei Gelegenheit der Untersuchungen über die Antennen-Nephridien der Amphipoden fand ich eine Gammarus-Art mit einem Bakterium infiziert, welches sowohl wegen seiner immensen Anzahl, als auch

1) Vorgetragen in der Sitzung der Kgl. böhm. Gesellsch. d. Wissensch. in Prag den 8. Juni 1900.

wegen seiner Größe, Organisation, Keime und ökologischen Verhältnisse dermaßen auffallend war, daß ich unwillkürlich und mehr zur eigenen Belehrung dessen Untersuchung vornahm. Da ich auf diesem Wege zu einigen Resultaten gelangte, welche das allgemeine Interesse erwecken dürften, so betrachte ich es als nicht überflüssig, diese Bemerkungen der weiteren Oeffentlichkeit vorzulegen.

Die genannte Gammarus-Art lebt im Garschinasee in der Schweiz (Rhätikon, Graubünden, in der Höhe von 2189 m), und zwar in großer Menge, da Prof. Zschokke in Basel, welcher die Art hier sammelte, mir einige 300 in Alkohol konservierte Exemplare zu Gebote stellte. Diese Art weicht wesentlich von unserem einheimischen Gammarus ab, in welch letzterem mir es nicht gelang, eine Bakteriosis sicherzustellen. Dagegen ist der Gammarus aus dem Garschinasee in der weit größten Anzahl von Individuen mit der Bakteriosis befallen und insofern ich nach den von mir durch die Schnittmethode untersuchten Individuen annäherungsweise zu berechnen vermag, sind wenigstens 75 Proz. der Flohkrebse mit dem Bakterium infiziert und dies in so enormer Menge, daß ich eine ähnliche Infektion bei keinem Vertreter der Evertebraten bisher gesehen und über etwas Aehnliches auch in der Litteratur keine Erwähnung gefunden habe. Dagegen ist es schwierig zu beurteilen, in welchem Maße diese Bakteriosis auf den Garschiner Gammarus schädlich einwirkt; Prof. Zschokke sammelte höchst wahrscheinlich nur lebende Exemplare, und die Organisation der letzteren, soweit ich nach den toto-Präparaten zu beurteilen vermag, weicht nicht von den nichtinfizierten Individuen ab. Nur die Fettzellen der Leibeshöhle sind fast sämtlich vernichtet, bezw. zu Cysten umgewandelt, in welchen Tausende von Keimen des zu beschreibenden Bakteriums ihren Sitz finden. Die aus den Cysten ausgetretenen Keime sind dann auf der Oberfläche sämtlicher Organe zerstreut, namentlich aber in der Hämolymphe des Pericards und im Herzen selbst. Die erwachsenen Bakterien findet man ebenfalls in der Hämolymphe, und zwar beschränken sie sich sowohl auf die Kopf-, Antennen- und Kiemenhöhle, als vorzugsweise auf die Lakunen zwischen den Windungen des Antennen-Nephridiums, wo man sie an jedem Schnitte in enormer Anzahl findet. In der Bauchlakune, ferner im Pericard und Herzen, sofern das letztere in der Rumpfregion verläuft, sind die erwachsenen Bakterien nur sporadisch zerstreut.

So erscheint die Verteilung unseres Parasiten im Körper des konservierten Wirtstieres; nach meiner Meinung sind aber die erwachsenen Bakterien in den lebenden Flohkrebsen gleichmäßig in der Hämolymphe verteilt und erst während der Konservierung der Tiere in Alkohol sammelt sich der Inhalt des Herzens durch die kräftigen Kontraktionen dieses Organes in dem vorderen Körperteile, also im Kopfe, in den Antennen und namentlich in der Umgebung der Nephridien, wo sich die erwachsenen Bakterien in den engen Blutlakunen in der weit größten Menge anhäufen. Zu dieser Ansicht führt mich die Beobachtung, daß man in dem vorderen Abschnitte des Herzens einiger Exemplare neben den Keimen eine größere Anzahl der erwachsenen Bakterien findet, welche offenbar während des plötzlichen Absterbens des Flohkrebses schon in die Kopfhöhle nicht eingedrungen

sind, vor dem Absterben aber in der ganzen Länge des Herzens und Pericards verteilt wurden.

Mit Ausnahme der großen Fettzellen in der Leibeshöhle, welche also mit einer ungeheueren Menge der Bakterienkeime angefüllt sind und mit Ausnahme der in den Nephridiallakunen sporadisch vorkommenden Leukocyten, deren Cytoplasma oft die als Nahrung aufgenommenen erwachsenen Bakterien enthält (Fig. 9), in keinem anderen Falle war ich imstande, sicherzustellen, daß das in Rede stehende Bakterium in den Gewebszellen von Gammarus Platz finden würde. Nur in einem Exemplare fand ich einige Epithelzellen einer Kiemenlamelle mit dem erwachsenen Bakterium infiziert, welche jedoch durch die äußere derbe Cuticula nach außen vorzudringen nicht imstande waren. Bei diesem einzigen Falle der Zellinfektion muß ich aber bemerken, daß die erwähnte Stelle des Kiemenblattes mechanisch verletzt wurde, so daß die Bakterien aus der Kiemenhöhle leicht in die Epithelzellen eindringen konnten.

Nach diesen Beobachtungen ist es wohl berechtigt, den Schluß zu ziehen, daß das erwachsene Bakterium nur die Hämolymphe bewohnt, während seine Keime als Parasiten sowohl der Gewebszellen (Fettzellen und vielleicht auch des Darmepithels) als der Hämolymphe zu betrachten sind.

Sonst ist noch wichtig, die Bemerkung anzuknüpfen, daß der Gammarus aus dem Garschinasee noch von einer großen Anzahl anderer Parasiten befallen ist; auf meinen Schnittserien finde ich eine enorme Menge sämtlicher Stadien der Entwickelung einer Opaline, welche gleichzeitig mit dem Bakterium in der Hämolymphe lebt.

Ferner finde ich auf dem Epithel der Körperwandung hin und wieder Myxosporidienkeime aufgehängt, dazu kommen noch große Cysten in den ebenfalls großen Zellen namentlich in der Umgebung der Nephridien und schließlich eine Cyste mit Eiern einer erwachsenen Distomide gleichzeitig mit einem jungen Entwickelungstadium dieses Parasiten.

Auf den Schnittserien durch den Körper des Garschiner Gammarus ist es nicht leicht, die letztgenannten Parasiten spezifisch zu bestimmen und es wäre daher sehr erwünscht, dieselben im frischen Zustande an Ort und Stelle zu untersuchen und zu bestimmen.

Mein Interesse konzentrierte sich, wie gesagt, auf die Bakterien, teils was die Frage ihrer Organisation und namentlich des Kernes betrifft, teils was die Entwickelung anbelangt. Es ist nämlich beachtenswert, wenn man findet, daß die sporenähnlichen Keime in einer und derselben Ernährungsflüssigkeit bis zum vollständigen Bakterium ihre Entwickelung durchmachen, in welcher Flüssigkeit auch die erwachsene Bakterie lebt, und ferner wenn man die Thatsache sicherstellen kann, daß diese erwachsene Form sich in allen Fällen und ohne Ausnahme in einem Ruhestadium befindet, d. h. sie teilt sich nicht und ebenso bildet sie keine anderen Keime in demselben Wirtstiere.

In den vorliegenden Bemerkungen befasse ich mich mit der Frage der Organisation der erwachsenen Form und deren Entwickelungsstadien, soweit sie in dem Garschiner Gammarus leben. Die weitere Frage, wo die Vermehrung des Bakteriums stattfindet, ob in einem anderen Wirtstiere oder überhaupt in einem anderen Medium,

als in der Hämolymphe von Gammarus, muß natürlich den künftigen Untersuchungen zur Beantwortung überlassen werden. Aus dem Grunde aber, daß man bisher den ganzen Entwickelungscyklus nicht kennt, bezeichne ich den Parasiten von Gammarus nicht mit einem spezifischen Namen, obwohl es sicher ist, daß derselbe, sowohl durch seine Größe als Organisation und Keime, eine neue Form vorstellt; es ist aber möglich, daß das zweite Entwickelungsstadium, welches wahrscheinlich außerhalb Gammarus lebt, bereits bekannt und mit einem spezifischen Namen versehen ist. Deshalb betrachte ich es als sehr erwünscht, den ganzen Entwickelungscyklus unseres Bakteriums an Ort und Stelle, d. h. im Garschinasee selbst zu studieren, — einen Entwickelungscyklus, welcher auf den Polymorphismus der Bakterien und deren Entwickelung überhaupt ein neues Licht werfen dürfte.

Die zur Erkenntnis der Organisation unseres Bakteriums angewandten Methoden sind nicht neu, werden aber in der Bakteriologie vielleicht wenig gebraucht. Wie oben bemerkt, wurden die Untersuchungen über den Parasiten des Gammarus an den mit gewöhnlichen zoologischen Methoden hergestellten und mit gewöhnlichen Färbungsmitteln tingierten Präparaten angestellt. Es war vornehmlich Magnesia-Pikrokarmin und Hämatoxylin, welche mein Assistent Dr. Mrázek zur Färbung der Gewebe von Gammarus angewandt und im ersteren Fall noch mit bleu de Lyon nachgefärbt hat. Das Wichtigste bei der ganzen Prozedur ist eigentlich die Hämolymphe, in welcher die Bakterien und deren Keime leben. Es war nicht notwendig, zur Fixierung der Bakterien besondere Mittel, wie Flamme etc. zu wählen; die Bakterien wurden gleichzeitig mit der Hämolymphe fixiert und veränderten daher nicht ihre natürliche Körperstruktur. Diese letztere erscheint nun auf den Präparaten in allen Fällen und ohne Ausnahme dieselbe, man findet kein einziges Individuum, welches durch seine Organisation oder durch seine feinere Struktur von den übrigen wesentlich abweichen würde. Die Verteilung des Cytoplasmas, die Lage der Vakuolen, namentlich aber die Lage und Gestalt des Kernes treten sowohl bei den erwachsenen Bakterien als deren Keimen mit der größten Deutlichkeit und Regelmäßigkeit in allen Fällen hervor. Kurzum, nach den angewandten Fixierungs- und Färbungsmethoden wiederholt sich eine und dieselbe Organisation bei Tausenden von Individuen.

Aus diesem Grunde wird man nicht von „Artefakten“ oder von „Involutionsformen“ oder von „plasmolytischen Erscheinungen“ reden dürfen.

1. Organisation des erwachsenen Bakteriums. (Das Ruhestadium.)

In Fig. 1 ist eine Reihe der Bakterien im erwachsenen Stadium (Vergr. Zeiß, hom. Immers., Kompens.-Ok. 8) abgebildet. Desgleichen in Fig. 4 und 5 bei etwas schwächerer Vergrößerung (Kompens.-Ok. 4). Die Gestalt der Zellen ist nach diesen Abbildungen zwar sehr mannigfaltig, aber in der weit größeren Menge, nämlich in 95 Proz., erscheinen die Individuen in der Gestalt von

Stäbchen, wie sie in Fig. 1 (*b*, *c*) veranschaulicht sind. Dieselben erreichen meist 9—10 μ Länge, 2—$2^1/_2$ μ Breite und sind auf beiden Polen mehr oder weniger abgerundet. Aber auch die fast spindelförmigen, nur 7 μ langen Individuen (Fig. 1 (*a*, *e*), Fig. 4 *c*, Fig. 5 *d*) sind nicht selten und ebenso die in der mittleren Zone schwach eingeschnürten Stäbchen (Fig. 1 *d*, Fig. 5 *b*). Die Bakterien sind teils in der Hämolymphe zerstreut, so namentlich in den Antennen und Kiemenblättern, oder gruppenweise angehäuft, wie in der Kopfhöhle und in den Nephridiallakunen. Sämtliche Stäbchen ohne Ausnahme erscheinen als Individuen; in keinem einzigen Falle fand ich eine Fadenbildung oder auch nur Spuren einer Zellteilung; die Zellen befinden sich durchaus in dem Ruhestadium, was auch die Verhältnisse der Kerne bestätigen.

Die äußeren Umrisse der erwachsenen Bakterien treten schärfer hervor als bei den jungen Stäbchen, wie namentlich die mit bleu de Lyon nachgefärbten Präparate beweisen. Aber eine doppelt konturierte Zellmembran konnte ich auch mit stärksten Vergrößerungen nicht wahrnehmen. Ebenso ist es nicht möglich, an isolierten Stäbchen eine äußere Schleimhülle zu sehen; daß aber eine solche wirklich existiert, beweisen die oben erwähnten Bakterienklumpen, welche eben in einer schleimähnlichen Umhüllung stecken. Namentlich in den Nephridiallakunen, welche mit kleineren Bakterienklumpen erfüllt sind, erscheint der Schleim auf der Peripherie der Bakterien als ein breiter, unregelmäßig lappiger, durch eine schwache Lichtbrechung sich verratender Saum. Der Schleim ist ganz homogen und muß ziemlich klebrig sein, da auf jeder solcher Bakterienkolonie zahlreiche Opalinenkeime oder auch die Zellen der Hämolymphe angeklebt sind. Eine Abbildung dieser Verhältnisse veröffentliche ich in einer anderen, die Antennen-Nephridien behandelnden Arbeit (Zeitschr. f. wiss. Zool. 1900).

Das Cytoplasma sämtlicher erwachsenen Stäbchen zeichnet sich durch dieselbe konstante Verteilung aus. Niemals war ich imstande, eine Wabenstruktur oder eine spezielle feinkörnige Struktur des Cytoplasmas festzustellen. Mit sämtlichen oben erwähnten Färbungsmitteln erscheint das Cytoplasma der erwachsenen Stäbchen als eine homogene, schwach glänzende Substanz, welche sich im bleu de Lyon schwach blau, im Hämatoxylin schwach violett und im Magnesia-Pikrokarmin schwach rosa färbt.

Namentlich in den jungen Stäbchen begegnet man diesen Verhältnissen; das Cytoplasma, in welchem ich eine äußerst feine Körnelung wahrzunehmen glaube (Fig. 2 *j*), ist gleichmäßig in der Zelle verteilt. Später bilden sich die Vakuolen und infolgedessen findet man einen Unterschied zwischen den jungen und erwachsenen Stäbchen. In den letzteren (Fig. 1 *a*—*f*, Fig. 4 *a*—*d*, Fig. 5 *a*—*e*) veranlassen die großen Vakuolen (*v*), daß das Cytoplasma auf beiden Körperpolen als eine dünne Schicht unterhalb der Zellmembran zieht und nur in dem mittleren Teile der Zelle ein dichteres Cytoplasma angehäuft ist. Ich bezeichne es als das centrale Cytoplasma und finde hier keine „Centralvakuole“ nach dem Begriffe Migula's. Weiter unten werden wir finden, daß das centrale Cytoplasma der konstante Sitz des Kernes ist.

Die erwähnten Vakuolen sind in der Regel zwei, eine vor, und eine hinter dem centralen Cytoplasma. Selten vermehren sich die Vakuolen auf 4, in den seltensten Fällen auf 6—8. In den letzten Fällen zieht das Cytoplasma als eine feine quere Brücke zwischen je zwei hintereinanderliegenden Vakuolen (Fig. 1 *v* und sind die letzteren in größerer Anzahl vorhanden, z. B. 6 oder 8 nach vorne und hinten, dann bekommt man Bilder einer gröberen Wabenstruktur. Auf meinen Präparaten erscheinen die Vakuolen, als ob sie eine hyaline, sich nicht färbende und schwach lichtbrechende Flüssigkeit enthielten. Im frischen Zustande wäre es möglich, sich bestimmter über die chemische Natur dieses Inhaltes auszusprechen. Meiner Ansicht nach ist es eine fettige Substanz und Produkt der Assimilation. In den meisten Fällen erscheint im Innern jeder Vakuole ein oder mehrere stark lichtbrechende, scharf konturierte und somit schwarze „Körnchen" (Fig. 1 *a*—*e*, Fig. 5 *a*—*c*, *e*) oder „Tröpfchen". Es sind vielleicht Reste des durch den Alkohol extrahierten Vakuoleninhaltes. In den jungen Stäbchen findet man weder Vakuolen noch „Körnchen"; je älter aber die Zelle ist, um so mehrere „Körnchen" sind in den Vakuolen vorhanden.

In anderen Bakterien werden beschrieben, und wie ich aus eigenen Erfahrungen weiß, existieren thatsächlich Körperchen und Körnchen von verschiedener Größe und Menge. Es ist daher auffallend, daß im Cytoplasma des Bakteriums von Gammarus keine Spur nach ähnlichen Beimischungen nachweisbar ist. Sämtliche erwachsene Stäbchen in der Hämolymphe von Gammarus sind eben nur nach dem dargestellten Schema des Cytoplasma organisiert: ein peripheres, schwach diffus sich färbendes, und ein centrales, dichteres Cytoplasma, vor und hinter welchem je eine oder mehrere Vakuolen gelagert sind. Eine alveoläre Struktur, welche so eingehend von Bütschli bei so vielen und großen Bakterien beschrieben wird, kommt also bei unserer parasitischen Art nicht vor. Man könnte mir allerdings entgegen stellen, daß meine negativen Resultate aus einer ungenügenden Fixierung des Materiales hervorgehen; aus den oben angeführten Gründen bin ich aber der Meinung, das eben die Konservierung unseres Bakteriums in dem natürlichen Medium, d. h. in der Hämolymphe selbst, bessere Aussichten zur Erkenntnis der Struktur darbietet, als andere bakteriologische Fixierungsmethoden. In meinem Bakterium hat sich nach der Fixierung nur das erhalten, was in dessen Zellen wirklich existiert, und ich bin überzeugt, daß die Untersuchung dieses Parasiten in frischem Zustande alles das bestätigen wird, was ich hier nach den gefärbten Präparaten beschrieben habe. Das Einzige, was ich näher nicht beleuchten kann, sind die stark lichtbrechenden „Körnchen" innerhalb der Vakuolen.

Mein größtes Interesse konzentrierte sich bei unseren Bakterien auf die Frage des Zellkernes, von dessen Vorhandensein oder Abwesenheit bei den Bakterien überhaupt bisher so viele und so verschiedene Meinungen ausgesprochen wurden. Ohne zu beabsichtigen, sämtliche über diesen Gegenstand veröffentlichte Litteratur zu besprechen, erwähne ich bloß, daß die Frage im großen und ganzen in nachfolgenden vier Richtungen gelöst wurde.

1) Nach den älteren, aber auch den jüngsten Ansichten sind die

Bakterien überhaupt kernlose Organismen. Neuerdings wird dieser Standpunkt namentlich von Migula und A. Fischer vertreten. Nach dem Ersteren ist das Auffinden echter Zellkerne zwar immer noch möglich, aber doch sehr unwahrscheinlich geworden, und wenn dieses Gebilde in der Bakterienzelle thatsächlich existiert, so muß es ein sehr unvollkommener Kern sein. Alles, was man als Kerne beschreibt, sollen nach Migula nur Erscheinungen der Lichtbrechung im Inhalte der Bakterienzelle sein und bei den gefärbten Objekten muß man außerdem die Konkretionen im Protoplasma berücksichtigen, welche die optische Täuschung noch erhöhen; auf diesem Wege wäre es möglich, die großen Centralvakuolen als Kerne aufzufassen. A. Fischer's Einwendungen sind namentlich gegen die weiter unten angeführte Anschauung Bütschli's über den sogenannten Centralkörper als den eigentlichen Zellkern der Bakterien gerichtet. Fischer beweist nämlich, daß der Bakterienkörper stark plasmolysbar ist, so nämlich, daß eine Menge wässeriger Flüssigkeit aus der Zelle durch die Behandlung von Alkohol extrahiert wird und infolgedessen sich das gesamte Cytoplasma kontrahiert. Der Centralkörper Bütschli's kann schon wegen seiner Größe nicht als Kern aufgefaßt werden, denn bei den niedersten Organismen, wie die Bakterien sind, kann man einen so großen Kern nicht erwarten. Thatsächlich war A. Fischer nicht imstande, den Centralkörper Bütschli's bei zahlreichen Bakterienarten wiederzufinden. Nach diesen Ausführungen A. Fischer's behauptet dann Migula, daß in jungen Bakterienstäbchen überhaupt keine Differenzierung des Cytoplasmas stattfindet und daß erst allmählich in dem gleichmäßig verteilten Plasma sich „ein Centralkörper" entwickelt. Dieses Gebilde ist zuerst „undeutlich und klein, später erheblich an Größe zunehmend" und erinnert „sofort an den Zellkern von Schottelius und an den Centralkörper Bütschli's, ist aber in Wirklichkeit eine große centrale Vakuole, dem Zellsaftraum anderer Pflanzenzellen entsprechend."

2) Die zweite, und zwar die verbreitetste Ansicht geht dahin, daß der ganze mit einer Zellmembran umgebene Körper der Bakterien den Kern vorstellt, wobei das Cytoplasma nur in recht spärlicher Menge auf der Peripherie vorhanden ist oder auch gänzlich fehlt. Nach Bütschli, dem Hauptvertreter dieser Lehre, besteht die Bakterienzelle aus einer Membran, einer Rindenschicht und einem Centralkörper. Die Rindenschicht fehlt bei den kleineren Arten, und so bestehen die letzteren nur aus der Membran und dem Centralkörper, welcher nun als Zellkern selbst aufgefaßt wird, indem er sich intensiver färben soll, als die periphere Rindenschicht. Die im Centralkörper befindlichen roten Körperchen entsprechen den Chromosomen in den Kernen höherer Pflanzen und Tiere.

Sollte man die Auffassung Bütschli's mit den bei dem Bakterium von Gammarus sichergestellten Verhältnissen in Einklang bringen, so würde die Rindenschicht Bütschli's unserem peripherischen Cytoplasma entsprechen, während das Centralplasma und die polaren Vakuolen das vorstellen müßte, was Bütschli als Centralkörper auffaßt. Daß eine solche Deutung „a priori" eine verfehlte ist, braucht nicht besonders hervorgehoben zu werden. Indessen

werden wir die eigentliche Lage und Gestalt des Kernes weiter unten eingehender besprechen können.

3) Nach der dritten, namentlich von Babes und Ernst vertretenen Auffassung erscheint der Zellkern der Bakterien und Oscillarien in der Gestalt von kleinen Körnern, welche sich gegenüber Färbmitteln verschieden verhalten. Es sind offenbar diejenigen Körperchen, welche Bütschli als Bestandteile des vermutlichen Kernes beschreibt. In dieser Beziehung erscheinen mir die Angaben Sjöbring's über die in Rede stehenden Gebilde von großer Wichtigkeit. Er unterscheidet zweierlei Körnchen, je nach der Lage im Bakterienkörper und nach ihrem Verhalten gegenüber Färbmitteln. Diejenigen nämlich, welche sich mit Karbolmethylenblau färben, sind zahlreich, können sich aber zu einem ovalen Centralkörper vereinigen. In ungefärbtem Zustande erscheinen sie als Vakuolen. Sie können auch zu beiden Polen gelagert sein, wobei sie durch feine Fäden gebunden sind, oder befinden sich im Centrum, so daß sie eine wirkliche Aequatorialplatte bilden. Kurzum, es handelt sich nach Sjöbring um die Erscheinung der indirekten Kernteilung.

Nach meiner Ueberzeugung und nach den weiter unten angeführten Beobachtungen von Feinberg ist die Deutung Sjöbring's ganz richtig.

4) Schließlich sind diejenigen Arbeiten anzuführen, nach welchen als Zellkern ein im Centrum des Körpers liegendes Körperchen aufaufgefaßt wird. Im Jahre 1888 beschrieb Schottelius bei den größeren Bakterienarten, namentlich bei Bacillus anthracis, diesen Zellkern, welcher bei den stäbchenartigen nach der Länge ausgezogen sein soll, während er bei den Mikrokokken rund ist. In dieser Gestalt erscheint der Kern nur bei den lebenden und den lebensfähigen Zellen, während er bei den absterbenden Individuen in Körnchen zerfällt. Schließlich aber läßt Schottelius die Natur dieses „Zellkernes" unbestimmt.

In der allerneuesten Zeit haben sich über den Zellkern der Bakterien Arthur Mayer und Dr. Feinberg ausgesprochen, obwohl nicht mit solcher Entschiedenheit wie Sjöbring. A. Mayer färbte die Bakterien mit Formolfuchsin. Nach seinen Abbildungen schließe ich, daß die intensiv rot sich färbenden Körperchen den Kernen entsprechen können. Er zeichnet sie in größerer Anzahl in jeder Zelle, so z. B. drei bei B. asterosporus und bezeichnet sie als Sporenanlagen (Flora. 1899. Taf. XXI. Fig. 57—62 u. a.) Die aus den Sporen keimenden Stäbchen besitzen nach unserem Autor 1—2 Kerne, welche sich später auf 6 vermehren. Daß es Kerne sind, begründet A. Mayer durch die gleiche Größe der von ihm beobachteten Körperchen und ferner dadurch, daß sie bereits vor der Bildung des Fettes in Sporen und Keimstäbchen erscheinen. Seine Beobachtungen aber schließt er mit diesem Satze ab: „Es ist also wahrscheinlich, daß diese „Kerne" ein protoplasmatisches Organ der Bakterienzelle sind."

Durch die Anwendung der etwas modifizierten Romanowskyschen Mischung des Methylenblaus und des Eosins hat schließlich Feinberg[1]) die Frage des Zellkernes bei Bakterien zu lösen ver-

1) Ueber den Bau der Bakterien. (Anat. Anz. 1900. No. 12/14. p. 225 u. f.)

sucht. Thatsächlich hat er auch nicht nur in den Fäulnisbakterien, sondern auch in den kleinen pathogenen Arten sichergestellt, daß sich die äußere Plasmaschicht blau und der innere Zellinhalt rot färbt, welch letzteren F. als Kerne deutet. Nach seinen Abbildungen kann es auch keinem Zweifel unterliegen, daß die von Feinberg gesehenen Körperchen Kerne vorstellen und ferner, daß ihm auch die Kernteilungsfiguren vorlagen; nur glaube ich, daß die Abbildungen bei allzu schwachen Vergrößerungen reproduziert wurden, welcher Umstand eine genauere Beurteilung der dargestellten Verhältnisse nicht zuläßt.

Die Gegner der Theorie, nach welcher auch die Bakterien wie jede normale Zelle kernführend sein müssen, werden kaum die Darlegungen der letztgenannten Autoren anerkennen. Diese meine Ansicht begründe ich mit den Ausführungen Migula's, welcher die höchst sorgfältigen Angaben Sjöbring's nicht für richtig hält und die ersten diesbezüglichen Mitteilungen A. Meyer's scharf bekämpft.

Thatsächlich dürfte der Streit von der Natur der färbbaren Körperchen im Bakterienkörper fortdauern, wenn die letzteren bei allen Arten und in allen Entwickelungsstadien als eine größere Körnchenanzahl vorhanden wären. Mit Recht kann man einwenden, warum in so kleinen Zellen, wie die Bakterien sind, eine größere oder spärlichere Menge dieser Körperchen vorkommt, und welche von diesen die eigentlichen Kerne vorstellen und ob es überhaupt Kerne sind? Es müßte anders sein, wenn in jedem Stäbchen und in bestimmten Stadien des Lebens nur ein einziges färbbares Körperchen vorhanden wäre, welches Körperchen sich durch eine konstante Lagerung, sowie durch bestimmte morphologische und mikrochemische Eigenschaften, welche mit den der Kerne der Tiere und Pflanzen übereinstimmen, auszeichnen würde.

Dann müßte ein derartiges Körperchen als echter Zellkern aufgefaßt werden. Meinen Erfahrungen zufolge wurde bisher ein solches Stadium der Bakterientwickelung (wenigstens nicht regelmäßig) bei jeder Art nicht festgestellt. Vielmehr ist es wahrscheinlich, daß die Arten, bei denen versucht wurde, den Kern nachzuweisen, sich in gewissen Teilungsstadien befanden, oder aber sich zur Sporenbildung vorbereiteten. In diesen traf man einen schon geteilten oder in Teilung begriffenen Kern. Diese meine Ansicht begründe ich vorzugsweise durch die Arbeit von Sjöbring, welcher sogar die feinen Verbindungsfäden zwischen den sich teilenden Kernen beobachtete und ferner durch die Angaben Feinberg's, aus denen hervorgeht, daß ihm thatsächlich die Teilungsfiguren vorlagen.

Zum einwandslosen Beweise von der Existenz des Bakterienkernes vermag man auf dreierlei Art und Weise zu gelangen. Erstens, wenn man nachweist, daß die Bakterien sich in gewisser Lebensperiode in einem Ruhestadium befinden, zu welcher Zeit in deren Körper nur ein einziger Kern vorhanden ist, sich nicht teilt und sich durch eine konstante Gestalt und Lage in der Zelle auszeichnet.

Zweitens ist es notwendig, den Nachweis zu führen, daß der

Kern schon in den Sporen oder jedwelchen Bakterienkeimen existiert und sich durch dieselben morphologischen und chemischen Eigenschaften auszeichnet, wie in dem erwachsenen Ruhestadium. Drittens, daß die aus den Sporen entwickelte junge Bakterie sämtlicher sekundärer Assimilationsprodukte innerhalb des Cytoplasmas, wie Vakuolen, Körnchen etc. entbehrend, nur mit gleichmäßig verteiltem Cytoplasma und darin gelagertem Kerne versehen ist.

Allen diesen Postulaten entspricht das Bakterium aus dem Gammarus von Garschina.

In Fig. 1 sind 5 Bakterien in verschiedener Körpergestalt abgebildet; das mit dem bleu de Lyon gefärbte Cytoplasma erscheint im Centrum verdichtet und wurde deshalb als Centralplasma bezeichnet. Hier, in jedem Falle und ohne Ausnahme, somit in Millionen von Individuen finde ich ein im Centrum liegendes kugelförmiges Körperchen (*n*), welches sich mit Magnesia-Pikrokarmin intensiv rot färbt. Es ist ein echter Zellkern. Ebenso findet man in Fig. 4 nach der Färbung mit Hämatoxylin; innerhalb des dichten Centralplasmas liegt ein dunkelviolet, nicht selten bis schwarz gefärbter Zellkern. Nicht weniger nach der bloßen Pikrokarminfärbung, wie Fig. 5 (*n*) veranschaulicht. Dasselbe sieht man auch in den von einem Leukocyten verschluckten Bakterien (Fig. 9).

Daß diese Körperchen nichts anderes sein können als Kerne, beweisen nachfolgende Thatsachen:

1) Die Kerne liegen regelmäßig und immer im Centrum des Cytoplasmas, d. h. im Centrum der Zelle selbst. Nicht in einem einzigen Falle finde ich eine Ausnahme von dieser Regel. Der Kern ist also durch das Centralplasma auf seine Stelle gebunden. Ueber eine centrale Vakuole, welche Migula u. A. erwähnen, kann ich nichts Näheres angeben; es ist nur möglich, daß ein hyalines Höfchen um den Kern, welches namentlich auf den Pikrokarminpräparaten hervortritt (vgl. Fig. 1 *c*, Fig. 5 *a*, *b*), eine Vakuole vorstellt, welche aber mit den polaren Vakuolen nicht identisch sein kann. Das Höfchen erscheint auch nicht auf allen Präparaten, und in den Individuen, welche mit Hämatoxylin gefärbt wurden, finde ich keine Spur davon.

2) Der Kern unseres Bakteriums bewahrt in allen Fällen die gleiche Größe und Gestalt. Er ist kugelförmig, selten ein wenig elliptisch. Solche Regelmäßigkeit in den angegebenen Richtungen bewahren nicht die heterogenen Körnchen im Körper anderer Bakterien.

3) Bekanntlich sind die besten und bewährtesten Reagentien zum Nachweise der Kerne in den Zellen höherer Tiere und Pflanzen die Karmin- und Hämatoxylinfärbemittel. Mittels diesen erscheinen nun die Körperchen bei unserem Bakterium in denselben Nuancen gefärbt; in mikrochemischer Beziehung wird man also nicht bezweifeln können, daß man es hier mit echtem Zellkern zu thun hat.

Die Haupteinwendungen gegen meine Auffassung dürften die nachfolgenden sein.

Erstens, daß die Struktur dieser Kerne allzu einfach ist, daß ich weder von einer Kernmembran noch von einem Kernnetz, von

Chromosomen, Nukleolen u. s. w. reden kann. Dagegen möchte ich entgegnen: Die Kernmembran ist wahrscheinlich vorhanden, wegen ihrer Feinheit aber nicht nachweisbar. Die bestimmten Umrisse und die gleiche Größe und Gestalt beweisen, daß der Kern thatsächlich in dem umliegenden Cytoplasma als selbständiges Gebilde gelagert ist. Aus denselben Gründen kann ich nicht speziell die übrigen Komponenten des Kernes beschreiben. Der Kern aller Individuen mißt ein wenig mehr als 1 μ im Durchmesser und färbt sich intensiv mit angewandten Mitteln. Aber in gleicher Weise verhalten sich auch die Kerne verschiedener Gewebszellen des Tierkörpers, wo sie auch nicht selten ebenso klein sind wie bei unserem Bakterium. Ich erwähne nur die Kerne der glatten Muskelfasern niederer Tiere, der Bindegewebszellen, der Chordazellen etc., wo sie sich überall gleichmäßig und so intensiv färben, daß man feinere Netzstrukturen, Nukleolen und Chromosomen nicht wahrnehmen kann. Dasselbe gilt von den großen Kernen mancher Rhizopoden.

Andererseits dürfte man einwenden, daß ich eine Kernteilung nicht sicherstellen konnte. Ein solcher Einwand wäre aber gegenstandslos, zumal unser Bakterium, so lange es in der Hämolymphe des Flohkrebses lebt, sich überhaupt nicht teilt, sondern sich in einem Ruhestadium befindet. Von der Vermehrung dieses Parasiten in dem genannten Wirtstiere vermag ich überhaupt keine Mitteilung zu machen und kann hierüber nur diese Voraussetzungen aussprechen:

Erstens, wenn eine Vermehrung — entweder durch bloße Teilung oder durch Sporenbildung — im Gammarus stattfindet, so muß es in bestimmter Jahreszeit geschehen, gewiß aber nicht in dem Monate, als die Flohkrebse von Prof. Zschokke gesammelt wurden. Mir ist es aber nicht wahrscheinlich, daß das erwachsene Bakterium sich überhaupt im Gammarus vermehren würde. Ich neige mich eher zur zweiten Vermutung, daß die Vermehrung des Parasiten entweder frei in Wasser oder in einem anderen Wirtstiere stattfindet und daß erst durch die so entstehenden Keime unser Gammarus infiziert wird.

2. Struktur der Keime.

Obwohl sich also das erwachsene Bakterium im Körper des Gammarus nicht fortpflanzt, so findet man hier doch Tausende von Keimen und deren Uebergänge zu vollkommenen Organismen in den oben erwähnten Leibeshöhlen. Und sowohl die Keime als jugendliche Stäbchen sind wieder mit denselben Kernen versehen wie die erwachsenen Bakterien, ja in beiden Stadien kommen die Kerne noch überzeugender zum Vorschein als in den beschriebenen alten Stäbchen.

In der vorliegenden Mitteilung rede ich im allgemeinen von „Keimen“ des Bakteriums und benütze für sie nicht die Bezeichnung der „Sporen“ oder „Gonidien“; dies wohl nur aus dem Grunde, daß ich überhaupt nicht zu beurteilen vermag, auf welche Weise sie entstanden. Mit großer Wahrscheinlichkeit kann man nur so viel voraussetzen, daß sie außerhalb des Gammarus sich entwickelten und auf irgend eine Weise, vielleicht mit der Nahrung in dessen Gewebe eingedrungen sind. Der Hauptsitz der Keime sind die Fettzellen

auf der Dorsalseite des Verdauungstractus und nur in seltenen Fällen fand ich sie auch in einzelnen Epithelzellen des Darmes. In den Fettzellen oder in ganzen Komplexen derselben finde ich große, cystenartige Schläuche, in welchen Tausende von Keimen eingeschlossen sind (Fig. 7, 8). Gewöhnlich ist der Kern der Fettzelle mit einem Plasmareste einseitig gelagert und der ganze übrige Zellinhalt zu einer Cyste mit derber, glänzender Membran umgewandelt. In anderen Fällen sind die Kerne der Fettzellen auf der ganzen Peripherie der Cysten verteilt.

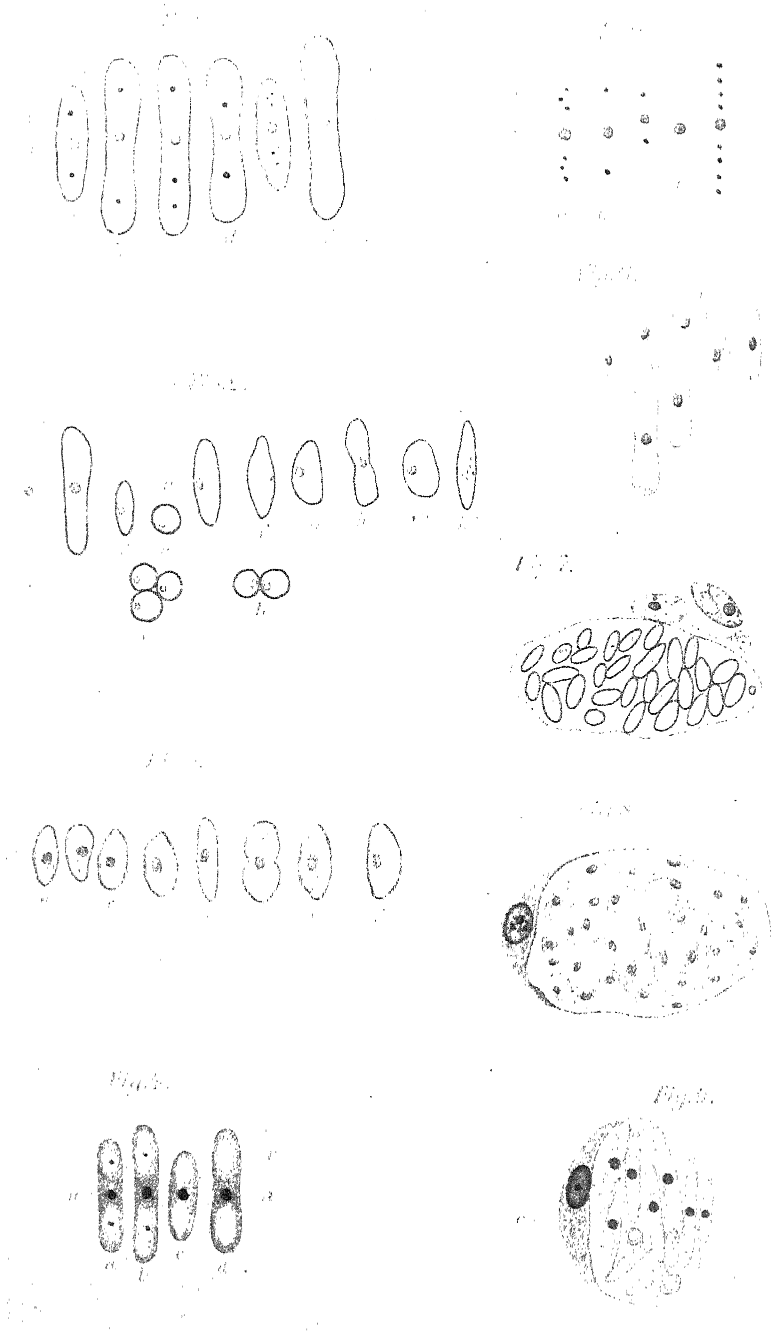
Aber nicht nur in den Cysten, sondern auch frei in der Hämolymphe des Pericardes und des Herzens sind die Keime in ebenso großer Menge zerstreut; ob sie aus den Cysten oder anderen Zellen hierher gelangten, vermag ich nicht zu entscheiden. Ebenso kann ich über die jüngsten Stadien der Keime nichts mitteilen. Mit der größten Mühe und sehr selten fand ich zwischen den Tausenden größerer Keime innerhalb der Cysten und einmal auch in einer Darmepithelzelle kugelförmige Stadien von etwa 2 μ im Durchmesser (Fig. 2 *a*, *b*, *c*). Diese sporenartigen Kügelchen bestehen aus einer derben und dicken, im bleu de Lyon intensiv blau sich färbenden äußeren Hülle und dem inneren plasmatischen Inhalte, dem eigentlichen Keime. Derselbe füllt aber nicht den ganzen inneren Raum aus, sondern ist zu einer Seite der Hülle verdrängt. So entsteht zwischen der Hülle und dem Keime ein plasmaloser Raum, welchem wir auch bei den weiteren Entwickelungsstadien begegnen werden. Ob er mit einer Flüssigkeit erfüllt ist, läßt sich nicht mit Sicherheit entscheiden.

Der plasmatische Teil der Keime färbt sich schwach blau wie das Cytoplasma der erwachsenen Bakterien und enthält einen sehr kleinen centralen Kern. Sonst vermag man bei der Kleinheit der Objekte keine anderen Differenzierungen wahrzunehmen. Aber das muß hervorgehoben werden, daß der rot gefärbte Kern mit der größten Deutlichkeit hervortritt.

Daß zwischen den Kügelchen und den in Fig. 2 (*d—ch*), Fig. 3 und 6 abgebildeten Keimen ein genetischer Zusammenhang existiert, beweist die Struktur der letzteren. Die in der Hülle eingeschlossene Zelle wächst nämlich allmählich und gewinnt eine sichelförmige, dann halbmondförmige oder hufeisenförmige Gestalt, verbleibt aber fortwährend in der äußeren Hülle, welche mit der größten Deutlichkeit an meinen Präparaten hervortritt. Bemerkenswert ist aber dabei, daß die Hülle in diesen langgestreckten Keimen nicht so dick ist wie in den kugelförmigen Stadien. Die Hülle selbst muß elastisch sein, da sie sich bei dem Wachstum des Keimes in die Länge zieht.

Das Wachstum der Keimzellen läßt sich durch folgende Messungen nachweisen:

Keim Fig. 2 *d*	mißt	in	der	Länge	4	μ
Keime Fig. 3 *a—d*	messen	„	„	„	5	„
Keime Fig. 2 *g* u. *ch*	„	„	„	„	5	„
Keime Fig. 3 *e*, *f*	„	„	„	„	6	„
Keime Fig. 2 *e*, *f*	„	„	„	„	6	„
Keim Fig. 2 *h*	mißt	„	„	„	7	„
Keim Fig. 3 *g*	„	„	„	„	7	„
Junge Stäbchen Fig. 2 *i*, *j*	messen	„	„	„	8	„



Gustav Fischer

Schließlich erstreckt sich der Keim in gerader Linie und stellt ein junges Stäbchen vor (Fig. 3 *i*, *j*).

Die äußere Hülle der Keime entwickelt sich aber nicht zur Membran des jungen Stäbchens, auch verschleimt sie nicht während des Wachstums, sondern wird offenbar durchgebrochen und das Stäbchen schlüpft aus. Man findet nämlich an jungen Stäbchen (Fig. 3 *i*) Ueberreste der äußeren Hülle als deutliche Fetzchen auf der Oberfläche.

Eine Abweichung von dem dargestellten Wachstumsprozesse finde ich nicht. Die hufeisenförmigen Stadien sind aber die weit zahlreichsten.

Die Zelle innerhalb der äußeren Hülle ist sehr schwach konturiert und dasselbe wiederholt sich auch auf den jungen Stäbchen (Fig. 2 *j*). Das Cytoplasma ist überall gleichmäßig verteilt, scheint äußerst feinkörnig zu sein und läßt in keinem einzigen Falle irgendwelche Differenzierung zu Körnchen und Vakuolen erkennen. Somit kann man noch nicht von einem peripheren und centralen Cytoplasma reden. Nur der in allen Fällen gleich gestaltete, gleich große und dieselbe Lage im Centrum der Zelle einnehmende Kern von kaum 1 μ im Durchmesser tritt mit der größten Deutlichkeit hervor. Von dieser Regel finde ich keine einzige Ausnahme.

Derselbe Kern also, wie wir ihn in den erwachsenen Bakterien sichergestellt haben, wiederholt sich in allen bisher bekannten Entwickelungsstadien in Bezug auf die Gestalt, Lage, verhältnismäßige Größe und sein Verhalten gegenüber Färbemitteln.

Tafelerklärung.

Fig. 1. Reihe von erwachsenen Bakterien aus der Kopfhöhle von Gammarus aus dem Garschinasee. Gefärbt mit Magnesia-Pikrokarmin und nachgefärbt mit bleu de Lyon. Vergr. Zeiß, hom. Imm. Komp.-Ok. 8. Größenverhältnisse: *a*, *e* = 7 μ lang, 2 μ breit; *b*, *c*, *f* = 10 μ lang, $2^1/_2$ μ breit; *d* = 9 μ lang, 2 μ breit.

Fig. 2. Entwickelung der Keime *a*—*k* bis zu jungen Stäbchen *i*, *j*. Größenangaben im Texte. Dieselbe Behandlung wie bei Fig. 1.

Fig. 3. Reihe von Keimen aus der Cyste. Dieselbe Behandlung wie in Fig. 1. Größenverhältnisse im Texte.

Fig. 4. 4 erwachsene Bakterien nach der Färbung mit Hämatoxylin. Vergr. Zeiß, hom. Imm. Komp.-Ok. 4.

Fig. 5. 5 erwachsene Bakterien, gefärbt mit Magnesia-Pikrokarmin. Vergr. wie Fig. 4.

Fig. 6. 5 Keime und 2 erwachsene Bakterien aus der Hämolymphe des Pericards. Vergr. wie Fig. 4.

Fig. 7. Eine Cyste innerhalb der Fettzellen mit Keimen. Behandlung wie Fig. 1.

Fig. 8. Desgleichen mit Hämatoxylin gefärbt.

Fig. 9. Leukocyt aus einer Nephridiallakune mit zahlreichen verschluckten erwachsenen Bakterien. Färbung mit Magnesia-Pikrokarmin.

Allgemeine Buchstabenbezeichnung:

n Kern im Centralplasma der erwachsenen Bakterien.
n' Kern der Keime und jungen Stäbchen.
v Vakuolen.
c Cytoplasma mit Kern der Fettzellen.
c' Cytoplasma mit Kern des Leukocyts.

Nochmals über die Tabakfermentation.

Von **Oscar Loew.**

Vor kurzem erschienen 2 Referate in diesem Centralblatt, welche auf Tabakfermentation Bezug haben. Die eine Arbeit, referiert in No. 10, ist von C. J. Koning und betitelt: Hollandsche Tabak, Morphologie en Biologie der Tabakbacteriën[1]); die andere, referiert in No. 11, ist von T. H. Vernhout und betitelt: Onderzoek over Bacteriën bij de Fermentatie der Tabak[2]). Da in beiden Arbeiten die Ursache der Tabakfermentation Bakterien zugeschrieben wird, sehe ich mich zu einigen Bemerkungen veranlaßt.

Keiner der beiden Autoren hat eine direkte mikroskopische Untersuchung fermentierender Tabaksblätter ausgeführt; keiner hat den Nachweis geliefert, daß die gefundenen Mikroben auf dem Blatte sich vermehren und Kolonieen bilden; keiner hat bewiesen, daß die Temperatursteigerung fermentierender Tabakshaufen auf der Atmung und Entwickelung von Mikroben beruht; keiner hat in Betracht gezogen, daß die gefundenen Mikroben möglicherweise lediglich als Sporen oder in sonst einem inaktiven Zustande auf den „fermentierenden“ Blättern vorhanden waren und keiner der beiden Autoren giebt einen Wassergehalt der fermentierenden Blätter bei den Versuchen an. Es wäre aber zur Beurteilung der Frage, ob Bakterien auf Tabaksblättern bei den Versuchen gewachsen sind, unbedingt nötig, jenen Wassergehalt zu kennen.

Koning fand 2 Mikrobenarten, einen Bacillus und einen Diplococcus. Erstere, zur Proteus-Gruppe gehörende Art, Bacillus tabaci, stirbt bei 60° nach 20 Minuten, bei 50° nach 6 Stunden nach des Verf.'s eigenen Beobachtungen[3]). Daß dieser Bacillus, wie Koning meint, die Tabakfermentation bedingt, ist schwer einzusehen; denn die fermentierenden Tabakshaufen erreichen ja meist über 50°, oft sogar 60° C. Ein Haufen, welcher also einmal 60° erreicht hat, müßte nach dem Auseinandernehmen sich nicht mehr erwärmen können.

Die Erfahrung zeigt aber, daß er sich nach 4—5maligem Umsetzen wieder erwärmt. Was den Diplococcus Koning's anlangt, so werden ebenfalls überzeugende Beweise betreffs irgendwelcher Beziehung zum Tabakaroma vermißt[4]).

Die Beobachtungen des anderen oben erwähnten Autors, Vernhout, weichen wesentlich von denen Koning's ab. Während Ko-

1) De indische Mercur. 1899. 8. Juli.

2) Mededeelingen uit S'Land Plantentuin. Batavia 1899.

3) Hiernach läßt sich als sicher annehmen, daß die Maximumtemperatur seines Wachstums noch unter 45° C liegt.

4) Ich fand in faulendem Tabak mit 60 Proz. Wasser einen Diplococcus, welcher sich durch beträchtliche Resistenz gegen Phenol auszeichnete.

ning seinen Bacillus zur Proteus-Gruppe stellt, reiht Vernhout den seinigen in die Heubacillengruppe. Vernhout's Bacillus tabaci fermentationis wächst noch bei 58° C, nicht mehr bei 59°, am besten zwischen 44 und 50°. Er bildet, wie B. subtilis, ellipsoidische Sporen. Man könnte vermuten, daß er, zum Unterschiede von diesem, Gärthätigkeit ausübt; denn Verf. erwähnt das Auftreten von Gasblasen bei der Kultur auf Kartoffeln und in Bouillon. Auffallen muß, daß, wie Verf. angiebt, die Kolonieen auf verschiedenen Kartoffelarten nicht immer gleich aussehen; das eine Mal schmutziggrün, das andere Mal grauweiß (grijs wit) [1]).

Um zu zeigen, daß das Aroma des Tabaks von der Entwickelung seines neuen Bacillus abhängt, sterilisierte Vernhout Stücke von einem Tabaksblatte in Petri-Schalen und bespritzte die einen Proben mit einer Aufschwemmung einer Kultur jenes Bacillus, die Kontrollproben aber nicht. Meist wurde dann, nach 4—6 Wochen dauernder Einwirkung einer Temperatur von 47° im Thermostaten, der Geruch der Proben verglichen, wobei sich ein größerer oder geringerer Unterschied ergab. Da aber nirgends erwähnt wird, daß die Kontrollproben eine den Hauptproben entsprechende Menge sterilisierten Wassers erhielten, war somit in einem wichtigen Punkte ein großer Unterschied vorhanden; denn selbst die von Bakterien und Enzymen unabhängigen Oxydationsvorgänge bedürfen einer gewissen Menge Wassers, um die leicht oxydablen Stoffe in Lösung dem Sauerstoffeinflusse zugänglich zu machen. Da ferner Verf. die Blattstücke durch 45 Minuten langes Erhitzen auf 120° im Autoklaven sterilisierte, dürfte er trotz einer gewissen Resistenz der Enzyme gegen trockene Hitze doch einen großen Teil, wenn nicht jede Spur, der im Tabak vorhandenen oxydierenden Enzyme getötet haben.

War nun die Versuchsanstellung einerseits nicht einwandfrei, so waren andererseits auch die Resultate keineswegs überzeugend; denn manchmal war auch der Geruch in den Kontrollstücken etwas verändert und einmal nahmen die infizierten Stücke einen Geruch nach süßem Roggenbrot an. Es heißt auf p. 35: „Tabak in II ruikt sterk naar zoet roggebrood“. Bekanntlich ist aber Tabakaroma verschieden von dem des Roggenbrotes.

Bei einer anderen Versuchsreihe des Verf.'s, in welcher spezielle Infektion unterblieb und lediglich sterilisierte mit nicht sterilisierten Blattstücken nach längerem Aufenthalte im Thermostaten verglichen wurden, scheinen die Unterschiede weit markanter gewesen zu sein als in der ersten Reihe, bei welcher er sterilisierte Stücke mit seinem Bacillus bald infizierte, bald nicht. Es waren eben die oxydierenden Enzyme bei den nicht sterilisierten Stücken der zweiten Reihe nicht zerstört worden.

Vernhout giebt allerdings an, daß sein Tabak weder Oxydase noch Peroxydase enthalten habe, aber er hat auf das dritte von mir mittlerweile nachgewiesene oxydierende Enzym, die Katalase, nicht geprüft.

1) Der zweite Mikrobe Vernhout's wurde nicht konstant auf fermentierenden Tabaksblättern gefunden, er bildet ebenfalls Fäden, wächst am besten bei 26°, zeigt aber auch noch Wachstum bei 50°.

Verf. behauptet, daß der Tabak während des sogenannten Trocknungsprozesses auf Java seine Oxydase und Peroxydase verliere und daß daher diese Enzyme bei der folgenden „Fermentierung“ keine Rolle mehr spielen können, wenigstens auf Java. Er giebt aber nicht an, ob er nur eine einzige oder eine größere Anzahl frisch „getrockneter“ (cured) Proben auf oxydierende Enzyme geprüft hat und ob etwa das Trockenverfahren auf Java in wesentlichen Punkten von dem üblichen abweicht [1]). Es geht aus der Abhandlung ferner nicht hervor, ob er Proben von verschiedenen Jahrgängen und verschiedenen Distrikten Javas geprüft hat.

Oxydase kann durch starke Belichtung des absterbenden Blattes oder durch zu lange andauernde feuchte Witterung während des sogenannten Trockenprozesses im Tabaksblatte abnehmen und schließlich verschwinden, wie ich selbst schon erwähnt habe (Report. No. 65 of U. S. D. of Agriculture. p. 29). Getrockneter Tabak ohne Oxydase wird daher öfters angetroffen. Peroxydase oder Katalase werden dagegen nicht so leicht zerstört wie Oxydase. Ob Tabak nach Verlust seines Oxydasegehaltes noch normal fermentieren kann, d. h. inwieweit die Rolle der Oxydase von Peroxydase und Katalase übernommen werden kann, bleibt noch zu eruieren.

Es kommt ja öfters vor, daß der Tabak sich nicht erwärmen will und trotz aller Bemühungen kein befriedigendes Aroma entwickelt. Vernhout erwähnt, daß bei seinen Versuchen (1898) Blätter verwendet wurden, welche schon teilweise fermentiert waren (1897). Hier ist aber wieder zu bedenken, daß durch das Fermentieren selbst, sowie bei längerem Liegen der Oxydasegehalt abnimmt und es kann daher wohl sein, daß in seinem „weinig gefermenteerden“ Tabak von 1897 nur noch so wenig Oxydase im Jahre 1898 vorhanden war, daß der Nachweis nicht mehr sicher gelang. Vernhout hat ferner nicht angegeben, wie die Reaktionen mit Guajac auf Oxydase und Peroxydase ausgeführt wurden. Bei dunkelbrauner Färbung des Tabaks ist im Extrakt eine blaue Färbung schwer zu erkennen. Ich habe für solche Fälle vorgeschlagen, eine geringe Menge des Reagenz auf das konzentrierte, kalt bereitete Extrakt zu schichten [2]). Die blaue Oxydasereaktion erscheint nach einiger Zeit an der Kontaktfläche.

Ich habe Schritte gethan, mir Proben getrockneten Tabaks aus Java zu verschaffen, um die Behauptung nachzuprüfen, daß auf Java die oxydierenden Enzyme bei dem Trockenprozesse aus den Tabaksblättern stets verschwinden, was mir höchst zweifelhaft ist.

Schließlich sei noch betreffs dieser Bakterientheorie bemerkt, daß

---

1) Ich will bei dieser Gelegenheit darauf hinweisen, daß Tabake, welche den Flue curing-Prozeß durchgemacht haben, wie die für Kau- und Cigarrettentabak bestimmten Sorten, in der Regel ihren Gesamtgehalt an oxydierenden Enzymen durch die noch über 80° C steigende Temperatur einbüßen. Solche Sorten werden der Fermentation nicht unterworfen; sie fermentieren nicht, selbst dann nicht, wenn man sie mit etwas Wasser bespritzt, in welchem fermentierende Blätter abgespült wurden, welches also die supponierten Bacilli tabaci fermentationis enthalten müßte.

2) Physiological studies of the Connecticut leaf tobacco. (Report No. 65. p. 31 U. S. D. of Agriculture. 1900.)

auf meinen Wunsch mehrere hiesige Bakteriologen die Oberfläche (das Abzuschabende) frisch fermentierter Tabaksblätter untersucht haben und zu demselben Schlusse gelangten wie ich, daß nämlich weder Kolonieen noch ein Belag auf reinlich behandelten Blättern vorhanden sind und die wenigen Kokken und Stäbchen ebensowenig wie die Sporen in Betracht kommen können. Mehrere Forscher von der Agrikultur-Versuchsstation in Louisiana sind, wie mir kürzlich mitgeteilt wurde, zu dem gleichen Schlusse gelangt[1]).

U. S. Department of Agriculture, Division of Vegetable Physiology and Pathology, im Juli 1900.

Original-Referate aus bakteriologischen und gärungsphysiologischen Instituten, Laboratorien etc.

Nachdruck verboten.

Arbeiten der botanischen Abteilung der Versuchsstation des Kgl. Pomologischen Instituts zu Proskau.

II. Bericht[2]).

Von Dr. **Rud. Aderhold**, Leiter der Abteilung.

Mit einer Tafel.

Die Fusicladien unserer Obstbäume. II. Teil.

Ueber die Fusicladien unserer Obstbäume hat Ref. eine erste Abhandlung in den Landwirtschaftl. Jahrb. 1896. p. 875—914 mit 3 Tafeln veröffentlicht. Sie behandelt Fusicladium dendriticum (Wallr.) Fckl. und Fusicladium pirinum (Lib.) Fckl. (Venturia inaequalis [Cooke] Adrh. und Venturia pirina Adrh.[3]) nebst den zugehörigen Perithecien. Der zweite, demnächst gleichfalls in den Landwirtschaftl. Jahrb. erscheinende Teil behandelt: 1) Fusicladium Cerasi (Rbh.) Sacc., 2) die Wirtspflanzen der betrachteten Pilze, 3) die wirtschaftliche Bedeutung derselben, 4) die Infektionsbedingungen und 5) die Bekämpfung der Fusicladien.

Fusicladium (Cladosporium) Cerasi (Rbh.) Sacc. kannte man bisher nur von den Kirschenfrüchten, kommt jedoch auch auf den Blättern sowohl der Süß- wie der Sauerkirsche vor. Es weicht hinsichtlich seiner Entwickelung in mehrfacher Hinsicht von den Fusicladien des Kernobstes ab. Es bildet nämlich seine Conidiensporen kettenweise und ist somit vom systematischen Standpunkte aus in die Gattung Cladosporium zu verweisen. Es

---

1) Vergl. noch meine Versuche in dem oben citierten Report. No. 65. p. 47, welche ergaben, daß bei 53—55° C und selbst 35 Proz. Wassergehalt kein irgend nennenswertes Bakterienwachstum auf Tabaksblättern stattfindet.

2) In einzelnen Teilen wörtlich nach dem an Se. Excellenz den Herrn Minister gerichteten Jahresberichte der Abteilung; in anderen Teilen nur an dieser Stelle veröffentlichte Originalabhandlung. (I. Ber. im Centralbl. f. Bakt. etc. 1899. p. 511.)

3) Vergl. hierzu: Aderhold, Revision der Species Venturia chlorospora, inaequalis und ditricha autorum. (Hedwigia. Bd. XXXVI. 1897. p. 67—83.)

gleicht in morphologischer Hinsicht völlig dem Cladosporium carpophilum v. Thüm., welches in Nordamerika und zeitweilig auch in Südeuropa die Pfirsichkultur schädigt. Doch ist seine Identität mit diesem Pilze erst noch durch Impfversuche zu erweisen.

Ausgezeichnet gegenüber den anderen Fusicladien ist der Kirschenpilz ferner durch seine sehr ausgesprochene Neigung, Dauermycelien mit Gemmen (Chlamydosporen) zu bilden, ähnlich wie man sie bei den Rußtaupilzen zu finden gewöhnt ist. Nichtsdestoweniger gehört auch zu ihm, wie durch Kultur im Tropfen erwiesen wurde, eine Venturia als Perithecienform, die ich als Venturia Cerasi n. spec. bezeichnet habe. Sie steht morphologisch der Venturia ditricha (Fries) Karsten und Venturia pirina Adrh.[1]) sehr nahe und gehört wie diese zu denjenigen Formen, bei welchen die längere und dickere Zelle im Ascus vorangeht. Die Perithecien scheinen auch auf solchen Blättern, die stark von der Conidienform befallen waren, nicht alljährlich gebildet zu werden. Der Pilz regeneriert sich außer durch sie nachweislich auch durch die Dauermycelreste, die auf überwinterten Blättern im Frühjahre wieder Conidienträger erzeugten, und die aller Wahrscheinlichkeit nach auch auf den Zweigen der Bäume vorkommen.

Als Wirtspflanzen dienen dem Fusicladium (Cladosporium) Cerasi, sofern sich seine Identität mit Cladosporium carpophilum v. Thüm. bewahrheitet, alle Steinobst- und wahrscheinlich auch verschiedene wilde Prunus-Arten. Fusicladium dendriticum ist auf vielen Pirus-Arten der Malus-Gruppe (P. spectabilis Ait., P. Kaido Sieb., P. floribunda Sieb., P. baccata L., P. prunifolia Willd., P. rivularis Hook., P. divica Mnch.) beobachtet worden und scheint hier überall vorzukommen. In einer Varietät geht es auf Sorbus-Arten und wahrscheinlich auch auf Crataegus über. Andere Wirte hat es dagegen aller Wahrscheinlichkeit nach nicht. Fusicladium pirinum (Lib.) Fckl. ist in seinem Vorkommen auf die Pirophora-Gruppe der Gattung Pirus beschränkt und scheint auch in dieser nicht einmal weit verbreitet zu sein. Es wurde nur gefunden auf P. salicifolia L. und P. Michauxii Bosc.

Die wirtschaftliche Bedeutung der Kernobst-Fusicladien ist in den letzten Jahren außerordentlich groß gewesen, da die Pilze neben den allbekannten Schäden an den Früchten in größerem Umfange auch vorzeitige Entblätterungen der Obstbäume herbeiführten. Namentlich hat Fusicladium dendriticum in dieser Hinsicht großen Schaden angerichtet. Weitgehende Entblätterungen werden in der hier referierten Abhandlung nach Photographieen illustriert. Grind der Triebe wurde beim Apfel nur an dem weißen Astrakan und einer nicht sicher bestimmten anderen Sorte beobachtet, ist bei der Birne aber häufig und führte hierorts nicht bloß im Winter, sondern auch während des Sommers zum Abtrocknen ganzer Triebe. Ein Salzburgerbirnen-Quartier der hiesigen Baumschulen wurde durch ihn völlig vernichtet. Fusicladium Cerasi hat für den deutschen

1) Vergl. Aderhold, l. c.

Obstbau noch keine praktische Bedeutung, obschon durch Kellermann ein Fall beobachtet wurde, wo es Kirschen so rußfarbig erscheinen ließ, daß sie unverkäuflich waren. Sollte es aber in der That dem Cladosporium carpophilum v. Thüm. identisch sein, so würde es größere Beachtung verdienen, da dieser Pilz besonders in Nordamerika die Pfirsiche schwarzfleckig und vielfach minderwertig macht und sogar zum Reißen derselben Veranlassung geben kann.

Die Infektionsbedingungen wurden bei Fusicladium pirinum genau studiert. Es ergab sich, daß dieser Pilz schon bei + 2° C ganz gut keimt und bei mittleren Temperaturen von etwa 10—20° C sehr rasch keimt, so daß schon 2 Stunden nach Eintrag in die Kulturflüssigkeit Keimschläuche hervortreten können. Die Keimung kann ohne Schaden sogar wiederholentlich durch Austrocknen unterbrochen worden; ja zeitweiliges Eintrocknen befördert die Infektion dadurch, daß es den Keimling mit dem Substrate in Berührung bringt und dadurch zur Appressorienbildung reizt. Diese Haftorganbildung ist Vorbedingung für die Infektion. Am Haftorgan findet eine Sekretabsonderung statt, welche zum Ankleben des Keimlings, vielleicht aber auch zur Lösung von Membranteilen dient.

Das Eindringen der Infektionshyphe ist wahrscheinlich auf einen chemotropischen Reiz zurückzuführen. Ein solcher wird nachweislich durch lösliche Pectinate auf die Keimlinge ausgeübt.

Der Pilz bevorzugt in exquisiter Weise junge Organe; die Inkubationszeit dauert in der Regel 12—14 Tage. Sie scheint durch reiche Niederschläge etwas verkürzt zu werden. Wahrscheinlich befördert auch langsame Entwickelung des Wirtes die Infektion. Sicher ist sie ein begünstigendes Moment für das Zustandekommen einer Epidemie. Die Epidemieen der letzten Jahre in Schlesien erklären sich aus der gegenüber dem 50-jährigen Durchschnitte zu hohen Feuchtigkeit des letzten Jahrzehnts, die namentlich in den Frühjahrsmonaten überreich war und der durch niedrige Temperatur begünstigten, langsamen Entwickelung der Wirtspflanzen. Hoher Wassergehalt der Wirte selbst ist ein die Infektion begünstigendes Moment. Lederige Blätter, schlecht begossene Topfpflanzen, Bäumchen im ersten Jahre nach der Verpflanzung sind deshalb für Infektion ungünstig.

(Schluß folgt.)

Will, H., Eine Mycoderma-Art und deren Einfluß auf Bier. II. Mitteilung. (Schluß.)

Einige Bemerkungen über die angebliche „endogene Zellbildung“ bei Mycoderma.

Im Jahre 1893 veröffentlichte Fischer[1]) eine Mitteilung über einen neuen, von ihm bei Kahmhautpilzen beobachteten Fortpflanzungsmodus, der darin bestehen sollte, daß aus gewissen Zellen, welche sich durch einen besonderen Glanz sowie gleichzeitig durch einen

1) Ueber einen neuen, bei Kahmhautpilzen beobachteten Fortpflanzungsmodus. (Centralbl. f. Bakt. etc. 1. Abt. Bd. XIV. 1893. p. 653.

bläulichen Schimmer auszeichnen, ein kleiner, stark lichtbrechender Körper austritt, um alsdann ganz ähnlich wie eine eben abgeschnürte Sprosse, an der Mutterzelle anliegend, allmählich bis zur Größe der ersteren heranzuwachsen.

In keinem Falle war es möglich, unter den von Fischer angegebenen Bedingungen ein Austreten von stark lichtbrechenden Körperchen zu beobachten; dagegen wurde offenbar, daß den Angaben von Fischer ein Beobachtungsfehler zu Grunde liegt.

Bilder, wie sie Fischer und Brebeck auf Tafel II, Fig. 8 gegeben haben, erhält man im hängenden Würzetropfen und auch in der Regel in Gelatine. Die stark lichtbrechenden, bläulich schimmernden Zellen sind aber nicht besonderer Art, sondern sie werden nur von einer Lufthülle umgeben; ebenso erschienen auch vielfach junge Tochterzellen von einer solchen Hülle umgeben und deshalb sehr stark lichtbrechend. Bei entsprechender Lage der Zellen gewinnt es alsdann manchmal den Anschein, als ob ein stark lichtbrechendes Körperchen des Zellinhaltes über die Zellwand heraustrete, thatsächlich ist es aber kein solches, sondern eine junge, in der bekannten Weise hervorsprossende Tochterzelle.

Einer weiteren Aufklärung bedarf die Angabe über die rasch (innerhalb weniger Minuten) zunehmende Grösse des kleinen, kreisrunden Körpers, von welchem die neuentstehende Zelle ihren Ursprung nehmen soll. Ich vermute, daß es sich hier nur um die entstehende und rasch zunehmende Luftfülle der jungen Tochterzelle handelt.

Nach den Angaben von Fischer und Brebeck erreicht der stark lichtbrechende Körper schließlich einen Durchmesser von etwa 2 μ. Dieser relativ grosse Körper tritt dann „allmählich durch die Wandung der Zelle hindurch“ nach aussen. In welcher Weise dieser Austritt erfolgt, ist aus den mitgeteilten Beobachtungen nicht ersichtlich. Am ersten kommt man wohl zu der Vorstellung, daß die Körperchen in ähnlicher Weise wie die Oeltropfen bei Einwirkung von Schwefel- oder Salzsäure durch die Membran hindurchtreten, nämlich in der Weise, daß die plastische Substanz derselben durch eine feine Oeffnung hindurchgleitet. In diesem Falle müsste jedoch ein Stadium zur Beobachtung kommen, in welchem die zum Teil ausserhalb, zum Teil noch innerhalb der Zelle liegende Substanz des stark lichtbrechenden Körperchens in der Mitte eine Einschnürung zeigt. Mycodermazellen mit derartigen Erscheinungen waren jedoch niemals zu finden.

Die Untersuchungen wurden auch systematisch durch kontinuierliche Beobachtungen unter dem Miskroskop durchgeführt.

Bei 18 Stunden alten Zellen konnte während einer Beobachtungsdauer von 4 Stunden die Entstehung von stark lichtbrechenden Körperchen nicht beobachtet werden. Durch einfache Sprossung an je einem Pole entwickelten die Mutterzellen eine Tochterzelle.

Schon diese auf genaue Beobachtungen gestützte Angaben, insbesondere über das Fehlen von stark lichtbrechenden Körperchen innerhalb der Zellen in den frühesten Stadien der Hautbildung, lassen, vorausgesetzt, daß sich die Mcyoderma-Arten in dieser Richtung gleich verhalten — und es scheint dies der Fall zu sein — die Beobachtungen Fischer's bedenklich erscheinen.

Nach den Angaben von Fischer und Brebeck (Erklärung zu den Abbildungen Tafel II Fig. 8) wäre in noch jüngeren Zellen als sie in meinen Versuchen verwendet wurden, stark lichtbrechende Körperchen vorhanden; das ist jedoch niemals der Fall.

In keinem Falle konnte bei Verwendung älterer Kulturen eine Beteiligung der stark lichtbrechenden Körperchen an der Bildung der Tochterzellen beobachtet werden, obgleich dieselben in jeder der Mutterzellen in der Einzahl oder Zweizahl vorhanden waren. Kleine, eben ausgestülpte Tochterzellen hatten zuweilen in ihrer Nachbarschaft solche kleine, stark lichtbrechende Körperchen, ohne daß sich dieselben an der Bildung der Tochterzellen sichtlich beteiligten.

Wachstumsform in Einzellkulturen.

Als Nährsubstrat wurde angewendet:

1. 10-proc. Würzegelatine (gehopfte Bierwürze von 14,5 Proc. Bllg.)
2. desgl. mit einem Zusatz von 0,7 Proc. Asparagin.
3. Desgl. mit einem Zusatz von 1 Proc. weinsaurem Ammonium.
4. Sauere Bouillon — Pepton — Gelatine.
5. Sauerkrautwassergelatine.

Die Wachstumsform der vorliegenden Mycodermaart ist auf den verwendeten Substraten, mit Ausnahme der Sauerkrautwassergelatine die gleiche. Die Unterschiede, welche während der Beobachtungszeit von einem Monat konstatiert werden konnten, sind sehr gering und wahrscheinlich wesentlich auf die Verschiedenheiten der Zusammensetzung der Nährsubstrate, also deren Nährwert für die vorliegende Mycoderma-Art zurückzuführen.

Zu unterscheiden ist die Wachstumsform der in der Gelatine völlig eingebetteten und der auf der Oberfläche schon ursprünglich oder nach Durchbruch durch die Gelatineschicht entwickelten Kolonien.

Indem in Beziehung auf die während der allmählichen Entwicklung der Kolonieen beobachteten Einzelheiten auf die Originalmitteilung verwiesen werden muß, sei hinsichtlich der Wachstumsform in Einzellkulturen an dieser Stelle folgendes mitgeteilt.

Nach 48 Stunden sind die Kolonieen makroskopisch deutlich sichtbar.

Die oberflächlich gelagerten Kolonieen der Gelatinen 1—3 haben sich verhältnismäßig stark ausgebreitet. Sie besitzen meist einen dichteren, in die Gelatine eingebetteten Kern und eine lockere, flach ausgebreitete Randzone von unregelmässigen Umrissen, deren Zellen von einer Lufthülle umgeben sind. Die Randzone erscheint daher auch bei schwacher Vergrößerung im durchfallenden Licht schwarz, der dichtere Kern dagegen grau gefärbt.

Nicht alle Zellen sind von einer Lufthülle umgeben. Die oberflächlich gelegenen Kolonien können aber auch mehr oder weniger abgerundet sein.

Bemerkenswert ist, daß die oberflächlich gelegenen Kolonieen auf Gelatine 4 zwar eine Lufthülle besitzen, aber nicht in dem Masse, als bei den anderen Substraten. Einzelne Kolonieen sind sogar frei von solchen und bleiben es auch lange Zeit.

Die in die Gelatine eingebetteten Kolonieen erscheinen im durchfallenden Licht grau gefärbt.

Die Zellen liegen in der Regel kompakt beisammen. Vollkommen regelmäßige Kolonieen, wie bei Kulturhefe (Wachtumstypus I) kommen in den Nährgelatinen 1—4 vor, sind jedoch bald häufiger bald seltener.

Am dritten Tage zeigen die großen Kolonieen auf den Gelatinen 1—3, auf welchen die Entwicklung bedeutend rascher vor sich geht, als auf Gelatine 4, im auffallenden Licht Perlmutterglanz. Das Lupenbild lässt erkennen, daß die Oberfläche der Kolonieen ungleichmässige Ausbildung besitzt. Unter der Lupe ist eine ganz feine, anscheinend körnige Struktur sichtbar.

Die Veränderungen, welche sich im Verlauf der weiteren Beobachtung vollzogen, waren gering und bewegten sich wesentlich in der Richtung, daß an den ursprünglich streng regelmässigen, in den Gelatinen eingebetteten Kolonieen Sproßverbände hervorwuchsen und an den übrigen Kolonieen sich die Auswüchse vermehrten. So gering diese Veränderungen an und für sich waren, so zeigten sich doch bei den verschiedenen Substraten gewisse Verschiedenheiten.

In der Gelatine 5 wachsen die Kolonien, wahrscheinlich teilweise auch infolge der geringeren Konsistenz des Substrates, unregelmäßig in ausgebreiteten Sprossverbänden, und bleibt diese Wachstumsform auch erhalten. Die Kolonieen sind meist flach ausgebreitet und locker gefügt. Die Sproßverbände zerfallen in den oberflächlich gelegenen Kolonieen teilweise nicht. Zuweilen ist ein dichterer, in der Gelatine eingebetteter Kern vorhanden. Die Färbung der Kolonieen ist entschieden heller als in den übrigen Versuchsreihen.

Im auffallenden Licht besitzen dieselben eine matt grauweiße Färbung.

Nach 10 Tagen hatten sich die oberflächlich gelegenen Kolonien mehr oder weniger abgerundet, während die in die Gelatine eingegebetteten durch weiteren Zuwachs in ausgebreiteten Sproßverbänden noch unregelmässiger geworden sind.

Wachstumsform in Plattenkulturen.

Als Nährsubstrat wurden wieder die Gelatinen 1—5 verwendet.

Bei der Vergleichung verschiedener Arten ist neben der Einsaatmenge auch noch das Alter der Kolonieen anzugeben, überhaupt muß Wert darauf gelegt werden, etwaige Veränderungen an den Kolonieen in der Zeit kennen zu lernen. Das Alter ist neben den äusseren Faktoren mitbestimmend für die Form der Kolonieen. Allem Anschein nach kommen die spezifischen Wachstumsformen der Kolonien auf den verschiedenen Nährböden erst in einem späteren Alter zum Ausdruck. Aus diesem Grunde wurde auch in den verschiedenen Versuchsreihen die Beobachtungsdauer verschiedene Zeit lang ausgedehnt.

Die Wachstumsform als diagnostisches Merkmal hat also nur einen relativen Wert.

In der Originalmitteilung wird die Wachstumsform in drei verschiedenen Entwicklungsstadien (am 4., 7. und 13. Tag) der Kolonien auf den Nährsubstraten 1—3 beschrieben. Wir beschränken uns hier

auf eine kurze Mitteilung über das Aussehen der Kolonieen am 13. Tag.

1. 10-proc. Würzegelatine. Die Kolonieen sind in der Regel kegelförmig, vereinzelt auch zapfenförmig. Der Rand der oberflächlich gelegenen Kolonieen ist im allgemeinen glatt und zeigt nur ganz schwache Einbuchtungen.

Die Oberfläche der Kolonieen erscheint in den oberen Partieen (in den oberen $^2/_3$) trocken, wie mit Kreide bestäubt, in der untersten matt, grau.

Die Oberfläche der Kolonieen ist nicht glatt, sondern wellig, und zwar verlaufen die Erhebungen der Wellen im allgemeinen strahlenförmig von der Spitze des Kegels nach dem Rand der Kolonie. Die welligen Erhebungen der Oberfläche sind in den oberen Partieen stärker als in den unteren, am Rand; infolgedessen erscheint der Rand nur ganz schwach gebuchtet.

Bei den in der Gelatine eingebetteten Kolonieen erscheint um einen dichteren Kern eine breite, lichte Zone, welche eine mehr oder weniger radiale Anordnung der Elemente erkennen läßt.

Bei schwacher Vergrösserung haben die Kolonieen das Aussehen von Schimmelpilzkolonien. Die lichte Zone löst sich in lange, teilweise mit dichten, kurzen Seitenästen versehene (daher Strahlen buschelförmig), teilweise in weit ausgebreiteten, im allgemeinen der Radialrichtung folgende Sproßverbände auf, die bei ungleicher Länge die ungleichmäßige Beschaffenheit des Randes der Kolonieen bedingen.

2. 10-proc. Bierwürzegelatine + 0.7 Proc. Asparagin. Die Form der Kolonien ist im allgemeinen halbkugel-, nicht kegelförmig wie bei 1. Die oberen Partieen erscheinen mehr abgeplattet als zugespitzt. Die untere Partie kann sehr stark verbreitert sein und infolgedessen auch sehr flach verlaufen. Hierdurch erhält die Kolonie die Form eines flachen, abgestutzten Kegels.

Die Kolonieen erscheinen etwa in halber Höhe stark eingezogen. Der obere, flach gewölbte Teil ist also scharf gegen den unteren abgesetzt. Beide Teile der Kolonieen unterscheiden sich noch dadurch, daß der untere radiäre, durch tiefere Rinnen hervorgerufene Streifung zeigt, durch welche auch die Einzelbuchtungen des Randes bedingt sind, während der obere Teil warzig oder gekrößartig gefaltet ist.

Die oberen Partieen der Kolonieen sind bis über die Einschnürungsstelle hinaus matt, weiss gefärbt (wie mit Kreide bestäubt), während die unterste, der Gelatine aufsitzende Partie mattgrau gefärbt ist.

Die Wachstumsform der in der Gelatine eingebetteten Kolonieen stimmt nach jeder Richtung hin mit derjenigen von 1 überein.

3. 10-proc. Bierwürzegelatine + 1 Proc. weinsaures Ammonium. Die Form der Kolonieen gleicht teils derjenigen eines Kugelabschnittes, teils derjenigen eines abgestumpften Kegels (wie bei 1).

Die Oberfläche der Kolonieen erscheint in den oberen zwei Dritteilen trocken weiß, wie mit Kreide bestäubt, in dem unteren Dritteil mattgrau. Die Oberfläche ist nicht glatt, die oberen, trockenen weißen zwei Dritteile derselben sind im Gegensatz zu denjenigen

von 1 grobwarzig (nicht gekröseartig gefaltet wie bei 2), teilweise wie von größeren, unregelmäßigen Blasen bedeckt. Einzelne Kolonieen besitzen an den höchstgelegenen Teilen oder an der Seitenfläche tiefere Einsenkungen. Im Gegensatz zu 1 verlaufen keine wellenförmigen Erhebungen von dem höchsten Teile der Kolonie nach dem Fuss derselben. Die Oberflächengestaltung steht in Uebereinstimmung mit derjenigen von 2. Die Verschiedenheiten derselben zwischen 1 und 3 dürften nach allen Beobachtungen spezifische sein.

Die Oberfläche des unteren Drittels der Kolonie erscheint unter der Lupe von seichten bis zum Rande verlaufenden Furchen durchzogen, durch welche dieselbe wellenförmig wird; der Rand ist infolgedessen schwach gebuchtet. Die Oberflächengestaltung des unteren Teiles der Kolonieen stimmt mit derjenigen der Kolonieen von 1 und 2 überein. In einem noch weiter vorgerücktem Entwicklungsstadium besitzt die untere sehr breit und flach gewordene Partie eine glatte Oberfläche und ist auch infolgedessen die Kolonie ganzrandig. Der flach gewölbten, mattgrauen unteren Partie sitzt dann, scharf getrennt von dieser, ein kleiner abgestumpfter Kegel von kreideweisser Farbe mit grobwarziger Oberfläche auf.

Die Wachstumserscheinungen sind sehr konstant, wie sich aus Untersuchungen, die Jahre aus einander liegen, ergiebt.

In keinem Falle wurden also hautartig ausgebreitete Kolonieen beobachtet, wie sie Brebeck bei Mycoderma cerevisiae I Hansen, Endoblastoderma amycoides II aus Moselwein etc. erhalten hat.

4. 10-proc. saure Bouillon-Pepton-Gelatine. Am 18. Tage war die Farbe der Kolonieen weißgrau, die Beschaffenheit glasig. Die Oberfläche der Kolonieen ist genau so wie diejenige der auf Sauerkrautwassergelatine gewachsenen grobwarzig; infolgedessen erscheint auch die Peripherie der Kolonieen an der Basis sehr stark gebuchtet. Ueber die Oberfläche ragen wie gewöhnlich von Luft eingehüllte Sproßverbände.

Um die Basis der Kolonieen zieht sich in der Regel eine meist sehr schmale Zone flach ausgebreiteter Zellen, durch welche ein weiteres Entwickelungsstadium eingeleitet wird. Dasselbe findet sich zuweilen auch schon ausgebildet vor. Um einen mehr weniger kegelförmigen Kern von 1—2 mm Durchmesser von der gleichen Beschaffenheit und Färbung dehnt sich eine bis zu mehreren Millimetern breite, flache Zone von wachsartigem Aussehen aus. Der glatte Rand der Kolonieen ist schwach eingekerbt und verlaufen meist deutlich sichtbar von den Einbuchtungen radiale Streifungen nach dem zentralen Kern. Auf der breiten, flachen Zone befinden sich in sehr geringer Anzahl halbkugelförmige Auswüchse.

Eine bis zu 29 Tagen ausgedehnte Beobachtung eines Versuches hat keine wesentliche Aenderung ergeben.

5. 10-proc. Sauerkrautwassergelatine. Am 18. Tage waren die Kolonieen im Wachstum gegenüber denjenigen auf den anderen Substraten sehr zurück. Die Kolonieen zeigen Halbkugel- bis Kegelform. Die Oberfläche derselben ist grobwarzig. Die Basis erscheint infolgedessen ziemlich stark gebuchtet; um den Rand der Basis breitet sich eine mehr weniger breite Zone einer oft büschelförmigen Lage von Mycodermazellen aus, welche in der Regel von

einer Lufthülle umgeben sind. Regelmäßige Furchungen der Oberfläche fehlen.

Die Farbe der größeren oberflächlich gelegenen Kolonieen ist weißgrau, die Beschaffenheit glasig. Es fehlt die schön kreideweiße Färbung, wie sie beim Wachstum auf anderen Substraten auftritt. Nachdem die Färbung der Zellen in den Kolonieen mit derjenigen der auf Sauerkrautwasser gewachsenen Häute übereinstimmt, darf wohl geschlossen werden, daß die Beschaffenheit des Substrates auf die Beschaffenheit und infolgedessen auch auf das Aussehen und die Färbung derselben von wesentlichem Einfluß ist, da die über die Oberfläche der Kolonieen hervorragenden Sproßverbände sämtlich von starken Lufthüllen umgeben sind.

Wachstumsform bei verschiedenen Temperaturen in Riesenkolonieen.

Als Nährsubstrat dienten die Gelatinen 1—5 wie bei den Plattenkulturen.

Die Riesenkolonieen auf 10-proc. Würzegelatine mit und ohne Zusätze entwickelten sich bei 22—23° C und bei 14—15° C. Für die Züchtung der Riesenkolonieen auf saurer Bouillongelatine stand dagegen im Panum'schen Thermostaten nur eine durchschnittliche Temperatur von 20,5° C und 9,5° C und für diejenigen mit Sauerkrautwassergelatine nur von 18,8° C und 9,5° C zur Verfügung.

Am 13. Tage unterschieden sich die auf Gelatine 1 bei 22—23° C gewachsenen Riesenkolonieen scharf von den anderen dadurch, daß dieselben in der Hauptsache mit einem dünnen Zellbelage eine sehr große Ausdehnung erhalten hatten, und zwar eine viel bedeutendere als die Riesenkolonieen auf Gelatine 2.

Die auf Gelatine 2 gewachsenen Kolonieen sind im Gegensatze zu den auf Gelatine 3 gewachsenen flach. Die Dicke der Zellschicht ist eine geringere als dort.

Die Peripherie erscheint durch ungemein zahlreiche Einbuchtungen von verschiedener Tiefe gelappt. Die centrale Partie, wenig eingesenkt, ist durch einen eben nur angedeuteten Ringwall abgegrenzt. Die zentrale Partie, von gelblich-weißer Farbe, ist grob gefaltet. Die periphere Zone matt-grauweiß.

Die auf Gelatine 3 gewachsenen Kolonieen unterscheiden sich von den übrigen scharf durch das kompakte Wachstum; sie sind nicht flach, sondern gehen bei ungefähr gleicher Flächenbedeckung wie bei den Kolonieen auf Gelatine 2 in die Höhe. Die Ränder der Kolonieen sind verhältnismäßig stark abgedacht.

Sehr scharf unterscheiden sich die Kolonieen von den anderen dadurch, daß deren Rand nur ganz leichte, in großen flachen Wellenlinien verlaufende Einbuchtungen zeigt. Ringwall auf dem Kamm von gelblich-weißer Farbe, mit vielfach feingefalteter Oberfläche, hoch erhoben. Die eingesenkte centrale Partie, ebenfalls von gelblich-weißer Farbe, sehr stark grob gefaltet. Die periphere Zone mattgrauweiß.

Die bei 14—15° C gezüchteten Kolonieen besaßen nach 23 Tagen das übereinstimmende Merkmal, daß sie sehr kompakt waren und sich wesentlich in der Höhenrichtung entwickelt hatten. Die ge-

ringen Unterschiede speziell derjenigen der Riesenkolonieen auf Gelatine 1 gegenüber den Kolonieen auf Gelatine 2 und 3 scheinen nur durch die den letzteren gemachten Zusätze bedingt zu sein.

Farbe der Kolonieen auf Gelatine 3 grauweiß. Die centrale Partie gelbweiß. Der Charakter der Riesenkolonieen nähert sich demjenigen der auf dem gleichen Substrat bei höherer Temperatur gewachsenen. Die Ränder sind glatt, sie verlaufen in sehr flachen Wellenlinien. Die Einbuchtungen des Randes sind infolgedessen nur sehr geringe. Die Randpartieen sind ziemlich stark abgedacht. Die centrale, von einem leicht erhobenen Ringwall umgebene Partie ist ziemlich stark eingesenkt. Die Abdachungsfläche ist glatt, während der Ringwall und die centrale Partie gefältelt ist.

Farbe der Kolonieen auf Gelatine 2 wie bei Gelatine 3. Die Riesenkolonieen zeigen fast das ganz gleiche Aussehen wie die auf Gelatine 3 gewachsenen, nur tritt der Ringwall noch stärker hervor. Die Faltung der centralen Partie ist etwas gröber als bei Gelatine 3.

Farbe der Riesenkolonieen auf Gelatine 1 wie bei den übrigen. Die Riesenkolonieen unterscheiden sich sehr scharf von den bei höherer Temperatur gewachsenen. Im allgemeinen sind dieselben nach Form und Aussehen den Riesenkolonieen der beiden unteren Versuchsreihen ähnlich, unterscheiden sich jedoch dadurch, daß der Ringwall noch weniger scharf ausgesprochen ist als bei den Riesenkolonieen auf Gelatine 3. Es sind nur einzelne Punkte längs des oberen Randes der Abdachung, welche stärker hervortreten. Die centrale Partie ist eingesenkt, aber nicht so stark wie bei den anderen Versuchsreihen. Dieselbe ist nur fein gefältelt, noch feiner als bei Gelatine 3.

Die auf Gelatine 4 und 5 bei den angegebenen Temperaturen gewachsenen Riesenkolonieen bieten nach den laufenden Beobachtungen wenig Charakteristisches dar.

Wachstumsform in Stich- und Strichkulturen.

Als Substrat dienten auch hier wieder die Gelatine 1—5. Um neben dem Einflusse der Verschiedenheit der Zusammensetzung der Gelatine auch denjenigen verschiedener Temperaturen auf die Wachstumsform kennen zu lernen, wurden die Kulturen in Nährgelatine 1—3 zu 23° und 14° C, diejenigen in Nährgelatine 4 und 5 zu 18° und 10° C gebracht.

A. Stichkulturen.

Ohne auf Einzelheiten einzugehen, sei hier nur bemerkt, daß sich wesentliche Unterschiede hinsichtlich der Wachstumsform nicht ergeben haben.

Vom Stichkanal aus erfolgt ein seitliches Wachstum in die Gelatine hinein in Form von kleinen Büscheln, die sich erst in einer gewissen Entfernung vom Stichkanal nach den verschiedensten Richtungen hin ausbreiten und verzweigen.

An den büschelförmigen Auswüchsen ist in der Regel unter der Lupe ein dichterer Kern erkennbar, von dem aus das Büschel seinen Ursprung nimmt. Je älter die Kulturen werden, desto deutlicher tritt dieser Kern hervor. Es sind dies die dichten, kompakten Ko-

lonieen, welche auf Querschnitten durch den Stichkanal zum Vorschein kommen.

Die Zellen können aber auch schon an der Basis der Auswüchse zu stärkeren, gerade vom Stichkanal abstehenden, haarförmigen Büscheln vereinigt sein.

Die haarförmig, seitlich vom Stichkanal in die Gelatine hineinragenden Auswüchse bestehen aus langen, verhältnismäßig dünnen (bis zu 20 μ : 3 μ) zu Sproßverbänden vereinigten Zellen. Die Sproßverbände sind nur in sehr geringem Umfange verzweigt, meist sitzen an den Gliedern des Hauptstammes nur eine oder höchstens zwei Tochterzellen. An der Basis derselben ist die Verzweigung eine etwas stärkere.

Die Form der seitlichen Auswüchse des Stichkanales wird also einerseits durch eine geringe seitliche Verzweigung überhaupt, andererseits durch eine stärkere Verzweigung der Sproßverbände an der Spitze hervorgerufen.

Die Form der Auswüchse (büschel- und haarförmig) scheint durch die Menge der in den Stichkanal eingeführten Zellen mitbedingt zu sein. Wenn die Auswüchse bezw. die Kolonieen, von welchen dieselben ausgehen, näher bei einander liegen, die Einsaat also eine größere war, stehen dieselben mehr weniger gerade vom Stichkanal ab. Stehen dagegen die Kolonieen in größerer Entfernung von einander, so breiten sich die Auswüchse auch nach allen Richtungen hin aus. Dementsprechend sind auch bei gemischter Wachstumsform die Auswüchse an den tiefsten Stellen des Stichkanals in der Regel büschelförmig. Die Tiefe des Stichkanals scheint auf die Länge der Zellen in den büschelförmigen Auswüchsen ohne wesentlichen Einfluß zu sein.

Aus der Thatsache, daß die vorliegende Mykoderma-Art noch in so beträchtlicher Tiefe (60 mm) innerhalb der Gelatine zu wachsen vermag, ergiebt sich, daß dieselbe ein ziemliches Maß von Luftentziehuug verträgt.

B. Strichkulturen.

Die Strichkulturen auf den verschiedenen Substraten und bei verschiedenen Temperaturen boten kaum charakteristische Merkmale.

Temperaturgrenzen für die Hautentwickelung. Schnelligkeit der Hautentwickelung. Entwickelung auf verschiedenen Nährsubstraten.

Die Versuche bezweckten, die Temperaturgrenzen, innerhalb welcher die Entwicklung der vorliegenden Mykoderma-Art in Form von Häuten stattfindet, kennen zu lernen. Gleichzeitig sollte die Schnelligkeit, mit welcher die Häute bei verschiedenen Temperaturgraden und bei Anwendung verschiedener Nährflüssigkeiten erfolgt, beobachtet werden.

Als Substrat wurde angewendet:

1) Würze von 14,2—14,5 Proz. und eine solche von 11 Proz.

2) Würze von 14,5 Proz. Bllg. mit einem Zusatz von 0,7 Proz. Asparagin.

3) Die gleiche Würze mit einem Zusatz von 1 Proz. weinsaurem Ammonium.

4) Jungbier, Reinhefebier aus dem Propagierungsapparate nach 8tägiger Gärung.

5) Sauerkrautwasser.

Die Flüssigkeiten befanden sich in Erlenmayer-Kolben von etwa 200 ccm Inhalt. Die Kolben waren so gefüllt, daß die Flüssigkeitsoberfläche einen Durchmesser von 7—8 cm besaß. Hierdurch konnte ein Anhaltspunkt für die Schnelligkeit, mit welcher die vorliegende Mykoderma-Art in Form einer Haut sich auf der Oberfläche entwickelte und ausbreitete, gewonnen werden.

Fischer und Brebeck beobachteten (l. c. p. 5) nach der Einimpfung von Mykodermazellen den Beginn der Kahmhautbildung also jedenfalls die ersten Hautflecke. Nähere Angaben hierüber fehlen. Solche Hautflecke können aber bei oberflächlicher Einsaat von Hautstückchen durch Zerfließen der letzteren zustande kommen ohne daß sich also bereits eine neue Haut in Entwickelung befindet.

Einen etwas sicheren Anhaltspunkt zur Bestimmung der Schnelligkeit, mit welcher das Wachstum der Mykodermahaut erfolgt, bietet jedenfalls der bei der vorliegenden Untersuchung angewandte Modus, bei welchem bestimmt wurde, wann in den einzelnen Kulturkolben, welche eine Flüssigkeitsoberfläche von nahezu dem gleichen Durchmesser hatten, die ganze Oberflache von einer matten, farblosen Haut bedeckt war. Es wurde jedoch wiederholt die Erfahrung gemacht, daß eine völlige Bedeckung selbst bei längerem Zuwarten nicht erfolgt. Insbesondere bei den niederen Temperaturen kann es bei der langsamen Vermehrung der Mykodermazellen vorkommen, daß sich die anfangs isoliert aus den Einsaatpartikelchen entstehenden Hautinseln nicht völlig mit einander vereinigen, es bleiben kleine Lücken, die nicht ausgefüllt werden. Auf dem Sauerkrautwasser erfolgt auch bei höherer Temperatur öfter zunächst eine Ausdehnung in der Fläche, dieselbe sistiert dann und wächst die Haut nur mehr in die Dicke, ohne die vorhandenen Lücken auszufüllen.

Der Wert dieser Art der Bestimmung der Schnelligkeit, mit welcher die Mykodermahaut wächst, ist ein relativer. Das wichtigste Moment für die Diagnose ist die obere und untere Grenze, bei welcher sich die Art noch entwickeln kann.

Aus den Versuchen ergiebt sich, daß für die Temperaturgrenzen in Beziehung auf das Wachstum der vorliegenden Mykoderma-Art als wichtigstes Moment die Zusammensetzung der Nährlösung in Betracht kommt. Für verschiedene Nährlösungen ist die Temperaturgrenze des Wachstums eine verschiedene.

Die Maximaltemperatur für die Hautbildung auf Würze mit Zusatz von Asparagin und Ammoniumtartrat liegt bei etwa 40° C. Für Würze von 14.2—14.5 Proz. und wahrscheinlich auch für eine solche von 11 Proz. liegt dieselbe noch etwas höher. Für Jungbier von der angegebenen Zusammensetzung liegt dieselbe tiefer. Bei 29° C war das Aussehen und die Färbung der auf dem Jungbier entstandenen Hautinseln am 4. Tage derartig, daß auf die Gegenwart von toten Zellen geschlossen werden mußte. In der That waren auch nur sehr vereinzelte Zellen noch lebend.

Das Minimum für die Hautbildung scheint sehr niedrig zu liegen, indem auf einzelnen der Nährflüssigkeiten, wie Würze mit Ammonium-

tartrat und Jungbier, bei 6° C nach 66 bezw. 46 Tagen die Oberfläche vollständig oder nahezu vollständig von einer Haut überzogen war. Auf den übrigen Flüssigkeiten hatte sich bei 5—6° C zwar keine Haut entfaltet, immerhin fanden sich aber im Absatz noch lebende kräftige und normale Mykodermazellen vor.

Die Entwicklung von Häuten bei den niederen Temperaturen wird jedenfalls von manchen Zufälligkeiten mit beeinflußt.

Die Optimaltemperatur liegt bei 25—30° C, also ziemlich hoch.

Die Schnelligkeit, mit welcher die Entwicklung der Mykodermahaut erfolgt, ist bei den verschiedenen Temperaturen und bei den verschiedenen Nährlösungen eine verschiedene.

Die schließliche Ausbildung und Stärke der Haut, welche dieselbe bei verschiedenen Temperaturen erreicht, ist ebenfalls nicht nur von der Temperatur, sondern auch von der Zusammensetzung der Nährlösung abhängig.

Mehrere Monate alte Mykodermahäute, welche sich ohne Störung auf Würze entwickeln konnten, sind in der Regel sehr derb und trocken, zuweilen auch glasig; die Beschaffenheit ist sehr wahrscheinlich zum Teil durch die Beschaffenheit der Zellmembran bedingt.

Junge Häute, welche schon Faltungen aufweisen, sind sehr beweglich und dehnbar. Nach Entnahme von Präparaten schließen sich die Lücken sofort wieder.

Der innere Zusammenhang älterer Häute ist ein sehr verschiedener meist kein fester. Sehr trockene Häute zerbrechen nur in große Stücke. Ein Zusammenhang zwischen der Festigkeit und den die Haut zusammensetzenden Zellelementen trat nicht deutlich hervor.

Aeltere Häute auf Würze (bis 5 Monate alte und zuweilen noch ältere) erschienen in verschiedenem Grade gekröseartig gefaltet.

Die über die Flüssigkeitsoberfläche hervorragenden gekröseartigen Faltungen verschwinden später und erhalten die Häute ein eigentümliches marmoriertes Aussehen. Dasselbe ist, wie sich an verschiedenen Zwischenstadien zeigt, welche zuweilen an der gleichen Haut deutlich erkennbar sind, in der Weise zustande gekommen, daß die Haut mehr und mehr in sich zusammenfiel, wobei die gefalteten, oberhalb der Flüssigkeitsoberfläche liegenden Partieen mehr Zellen ablagerten als die dazwischen liegenden. Die Zeichnung der Häute ist derartig, daß sich aus derselben noch ganz gut der Verlauf der Faltungen ersehen läßt.

Aeltere Häute sind im Gegensatze zu jüngeren, kreideweißen (wie mit Puder bestreut) matt gelblichweiß, sehr alte gelblichbraun gefärbt, wahrscheinlich bedingt durch die toten Zellen.

Die auf Sauerkrautwasser gewachsenen Häute der vorliegenden Mykoderma-Art sind auch in höherem Alter (beobachtet bis zu 3 Wochen) immer nur matt grauweiß, niemals trocken.

Die Häute auf Sauerkrautwasser bleiben auch in höherem Alter glatt, sie kräuseln sich nicht.

Einige Beobachtungen über die Lebensdauer von Mycoderma in Würzekulturen und in trockenem Zustand.

Die Kulturen, welche für den vorliegenden Zweck zur Verfügung standen, stammten aus dem Jahre 1895 und war die älteste derselben

vor $4^1/_2$ Jahren geimpft worden. Sowohl in dieser Kultur wie in einer nur wenige Monate jüngeren konnte durch Abimpfung in frische Würze die Gegenwart von lebenden Zellen nachgewiesen werden. Die geprüften Kulturen hatten im Laboratorium gestanden.

Gleichzeitig wurden auch noch Reinkulturen anderer Mykoderma-Arten in Würze auf die Gegenwart von lebenden Zellen untersucht.

Diese Kulturen hatten ebenfalls im Laboratorium gestanden. Trotzdem einige derselben mindestens 5 Jahre alt waren, gingen sie gleichwohl bei Uebertragung in frische Würze noch an, ein Beweis, daß Mykodermazellen in Würze sehr lange am Leben bleiben können.

Von diesen im Jahre 1894 aufgefrischten Kulturen war die älteste bis zur wiederholten Prüfung 4 Jahre und 5 Monate, die nächstälteste $3^1/_2$ Jahre geworden. Alle enthielten noch lebens- und entwickelungsfähige Zellen.

Mit Rücksicht auf die Erfahrungen, welche über die Lebensdauer getrockneter Hefe gemacht worden waren, sollte auch ein Versuch mit der vorliegenden Mykoderma-Art in dieser Beziehung unternommen, jedoch nur auf 2 Jahre ausgedehnt werden.

Gleichzeitig sollte der Versuch auch in der Weise variiert werden, daß über den Einfluß des Lichtes auf die getrockneten Mykodermazellen sowie über den Einfluß der Luft einige Beobachtungen gewonnen werden konnten. Außerdem sollte der Einfluß niederer und höherer (Zimmertemperatur) unter den genannten Faktoren geprüft werden. Weiter sollte untersucht werden, wie sich die Widerstandsfähigkeit der Mykodermazellen stellt, wenn dieselben einerseits unter dem Einflusse trockener Luft (im Exsiccator) und andererseits unter dem Einflusse gewöhnlicher Luft stehen.

Bezüglich der Einzelheiten der Versuchsanordnung muß auf das Original verwiesen werden.

Obgleich der Versuch zu keinem völlig befriedigenden Resultate führte, so bestätigt doch das mit einer Reinkultur erhaltene Ergebnis die schon früher gelegentlich gemachte Beobachtung, daß Mykodermazellen in trockenem Zustande sehr lange, im vorliegenden Falle mindestens zwei Jahre am Leben bleiben können. Jedenfalls ist auch hier, wie bei Hefe, niedere Temperatur für eine längere Lebensdauer in trockenem Zustand günstiger als höhere. Ob letztere allein nachteilig auf dieselbe einwirkt, läßt sich nicht mit Sicherheit sagen. Der Versuch im Exsiccator spricht gegen diese Annahme. Es müssen sich also noch andere Faktoren geltend machen. Nachdem die Einwirkung des Lichtes ausgeschlossen ist, kommt noch der Luftzutritt in Betracht. Letzterer dürfte für sich allein nicht von ausschlaggebendem Einflusse sein. Viel wahrscheinlicher ist, daß der Wassergehalt der getrockneten Zellen eine Hauptrolle spielt. Wird derselbe durch trockene Luft auf das möglichste Mindermaß herabgedrückt, so wird, wenigstens innerhalb eines verhältnismäßig kurzen Zeitraumes, keine weitgehende Schädigung der Zellen eintreten.

Daß Hefe, deren Wassergehalt durch Trocknen bei höherer Temperatur bis auf wenige Prozente herabgedrückt ist, unter der Einwirkung höherer Temperatur und direktem Zutritt von Luft mit wechselndem Feuchtigkeitsgehalt leidet, wurde schon früher durch eine Reihe von Beobachtungen festgestellt.

Neue Litteratur,

zusammengestellt von

San.-Rat Dr. Arthur Würzburg,

Bibliothekar im Kaiserl. Gesundheitsamte in Berlin.

Systematik, Morphologie und Biologie.

Boudier, Note sur le Tricholoma colossum Fr. et la place qu'il doit occuper dans les classifications. (Bull. de la soc. mycol. de France. 1900. Fasc. 1. p. 18—20.)

Davis, B. M., The fertilization of Albugo candida. (Botan. gaz. 1900. No. 5. p. 297—311.)

Ferraris, T., Contribuzione allo studio dei miceti degli agrumi. Di un nuovo ifomicete parassita nei frutti di Arancio. (Malpighia. Anno XIII. 1900. Fasc. 7/10. p. 368—381.)

Hasselbring, H., Comparative study of the development of Trichurus spiralis and Stysanus stemonites. (Botan. gaz. 1900. No. 5. p. 312—322.)

van Laer, H., Fermentation alcoolique. (Petit journ. du brasseur. 1900. p. 86—87.)

Largaiolli, V., Le diatomee del Trentino. XI. e XII. Laghi di Colbricon. Tridentum. 1899. Fasc. VIII/IX. 4 p.

Macbride, Th. H., The slime moulds. (Rhodora. Vol. II. 1900. No. 16. p. 75—81.)

Paccottet, P., Recherches sur les levures du vignoble de Champagne. (Rev. de viticulture. 1900. No. 337. p. 621—623.)

Reh, L., Periodicität bei Schildläusen. (Illustr. Ztschr. f. Entomol. 1900. No. 11. p. 161—162.)

Sturgis, W. C., Notes on some type-specimens of myxomycetes in the New York state museum. (Transact. of the Connecticut acad. of arts and scienc. 1900. Vol. X. Part II. p. 453—490.)

Zopf, W., Oxalsäurebildung durch Bakterien. (Ber. d. dtsch. botan. Gesellsch. 1900. Heft 1. p. 32—34.)

Beziehungen der Bakterien und Parasiten zur unbelebten Natur.

Boden.

Oméliansky, V., Nitrification de l'azote organique. (Annal. agronom. 1900. No. 6. p. 313—316.)

Rogoyski, K., Zur Kenntnis der Denitrifikation und der Zersetzungserscheinungen der tierischen Exkremente in der Ackererde. (Fühling's landwirtschaftl. Ztg. 1900. Heft 11—13. p. 425—428, 463—467, 503—508.)

Winogradsky, S. et Omėliansky, V., Influence des substances organiques sur le travail des microbes nitrificateurs. (Annal. agronom. 1900. No. 6. p. 299—309.)

Nahrungs- und Genußmittel, Gebrauchsgegenstände.

Bier, Brauerei.

Schönfeld, F., Die Verwendung von dem Typus Saaz angehörenden untergärigen Hefen im Brauereibetriebe. (Wchschr. f. Brauerei. 1900. No. 22. p. 313—315.)

Beziehungen der Bakterien und Parasiten zu Pflanzen.

Krankheitserregende Bakterien und Parasiten.

Beach, S. A., Lowe, V. H. and **Stewart, F. C.**, Common diseases and insects injurious to fruits. (New York agricult. experim. stat., Geneva, N. Y. 1899. Bullet. No. 170. p. 381—445.)

Beck v. Mannagetta, G. R., Ueber eine neue Krankheit unserer Radieschen. (Sitzber. d. naturwissensch.-mediz. Vereins f. Böhmen „Lotos". 1899. No. 8.)

Berlese, A., Notizie ed istruzioni sulla „Icerya Purchasi (Mask.)" e sulla „Aonidiella perniciosa (Comst.)". Pericolo della loro introduzione in Italia. (Bollett. di notizie agrar. 1900. No. 13. p. 567—582.)

Blodgett, F. H., A parasite upon carnation rust. (New York agricult. experim. stat., Geneva, N. Y. 1900. Bullet. No. 175. 13 p. 8°.)

Bode, A., Zur Bekämpfung der Obstbaumschädlinge. (Proskauer Obstbau-Ztg. 1900. Juni. p. 90—93.)

Burgess, A. F., A destructive tan-bark beetle. (Proceed. of the 11. annual meet. of the assoc. of economic entomol. U. S. Departm. of Agricult., Divis. of entomol. N. S. Bullet. No. 20. Washington 1899. p. 107—109.)
Clinton, G. P., The smuts of Illinois agricult. plants. (Univers. of Illinois agricult. experim. stat., Urbana. Bullet. 1900. No. 57. p. 289—350.)
Forbush, E. H., Recent work against the gipsy moth. (Proceed. of the 11. annual meet. of the assoc. of economic entomol. U. S. Departm. of Agricult., Divis. of entomol. N. S. Bullet. No. 20. Washington 1899. p. 104—107.)
Fürth, R. u. Stift, A., Weiterer Beitrag zur Bakteriose der Zuckerrübe. (Oesterr.-ungar. Ztschr. f. Zuckerindustrie u. Landwirtsch. 1900. Heft 2. p. 159—160.)
Held, Wie vertilge ich an noch blatt- und trieblosen Obstbäumen und Reben die Blut-, Schild- und Kommaläuse am raschesten? (Fühling's landwirtschaftl. Ztg. 1900. Heft 11. p. 424—425.)
Koningsberger, J. C., Onderzoekingen betreffende de roestziekte in de thee. (Teysmannia. 1899. p. 107—112.)
Kulisch, Die Bekämpfung des Oïdiums und der Peronospora. (Landwirtschaftl. Ztschr. f. Elsaß-Lothringen. 1900. No. 21, 22. p. 294—295, 307—308.)
Kurmann, Fr., Die Verbreitung und Bekämpfung der Reblaus in den österreichischen Weinbaugebieten in den Jahren 1898 und 1899. (Weinlaube. 1900. No. 23, 24. p. 268—271, 279—281.)
Mac Dougal, D. T. and Lloyd, F. E., The roots and mycorhizas of some of the Monotropaceae. (Bullet. of the New York botan. garden. 1900. No. 5. p. 419—429.)
Noel, P., Dactylopius vitis. (Vigne franç. 1900. No. 9. p. 141—142.)
Schlegel, H., Allerlei Beobachtungen über das Auftreten das Oïdiums und seine Bekämpfung. (Mitt. üb. Weinbau u. Kellerwirtsch. 1900. No. 4, 5. p. 54—56, 72—74.)
Schribaux, E., Un nouveau fléau à combattre; invasion de luzernières par une nouvelle espèce de cuscute; origine; caractères botaniques. (Journ. de la soc. roy. agric. de l'est de la Belgique. 1899. p. 199.)
Stand der Reblausverbreitung in Oesterreich bis Ende 1899. (Allg. Wein-Ztg. 1900. No. 22, 24. p. 213—214, 234—235.)
Stengele, Fr., Zur Bekämpfung des Heu- und Sauerwurms. (Wchbl. d. landwirtschaftl. Vereins im Großhrzgt. Baden. 1900. No. 20. p. 290—291.)
Stewart, F. C. and Blodgett, F. H., A fruit-disease survey of the Hudson valley in 1899. (New York agricult. experim. stat., Geneva, N. Y. Bullet. 1899. No. 167. p. 275—308.)
Téran, V., Insectes nuisibles. (Bullet. d'arboricult. et de floricult. potagère. 1899. p. 340.)
Wortmann, J., Ueber das Auftreten des Oïdium Tuckeri. (Weinbau u. Weinhandel. 1900. No. 20. p. 189—190.)

Entwickelungshemmung und Vernichtung der Bakterien.

Schäffer, E., Zur Untersuchung des Schwefels zur Bekämpfung von Oïdium. (Weinbau u. Weinhandel. 1900. No. 22. p. 217.)

Inhalt.

Originalmitteilungen.

Original-Referate aus bakteriologischen und gärungsphysiologischen Instituten, Laboratorien etc.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.

# CENTRALBLATT

für

Bakteriologie, Parasitenkunde u. Infektionskrankheiten.

Zweite Abteilung:

Allgemeine, landwirtschaftlich-technologische Bakteriologie, Gärungsphysiologie, Pflanzenpathologie und Pflanzenschutz.

In Verbindung mit

Prof. Dr. **Adametz** in Wien, Prof. Dr. **J. Behrens** in Karlsruhe i. B., Prof. Dr. **M. W. Beijerinck** in Delft, Geh. Regierungsrat Prof. Dr. **A. B. Frank** in Berlin, Dr. **v. Freudenreich** in Bern, Privatdocent Dr. **Lindau** in Berlin, Prof. Dr. **Lindner** in Berlin, Dr. **Morris**, Chef des Hansen-Laboratory, Jenner-Institute of Preventive Medicine in London, Prof. Dr. **Müller-Thurgau** in Wädensweil, Dr. **Erwin F. Smith** in Washington, D. C., U. S. A., Prof. Dr. **Stutzer** in Breslau, Prof. Dr. **Wehmer** in Hannover, Prof. Dr. **Weigmann** in Kiel und Prof. Dr. **Winogradsky** in St. Petersburg

herausgegeben von

Dr. O. Uhlworm in Cassel

und

Prof. Dr. Emil Christian Hansen in Kopenhagen.

Verlag von Gustav Fischer in Jena.

VI. Bd. **Jena**, den 12. Oktober 1900. **No. 19.**

Jährlich erscheinen 26 Nummern. Preis für den Band (Jahrgang) 20 Mark. Preis für eine einfache Nummer 75 Pfg., für eine Doppelnummer 1 Mark 50 Pfg. Nummern mit Tafeln kosten für jede Tafel 50 Pfg. mehr.

Hierzu als regelmäfsige Beilage die Inhaltsübersichten der I. Abteilung des Centralblattes.

Wünsche wegen Lieferung von besonderen Abdrücken wollen die Herren Mitarbeiter auf die Manuskripte schreiben oder bei Rücksendung der ersten Korrekturabzüge der Verlagsbuchhandlung mitteilen.

Am 27. September verschied in Berlin nach längerem Leiden der verehrte Mitherausgeber dieser Zeitschrift,

der Kaiserl. Geheime Regierungsrat, Vorsteher der biolog. Abteilung im Kaiserl. Gesundheitsamte,

Professor Dr. **Albert Bernhard Frank,**

tiefbetrauert von

Redaktion und Verlag.

Original-Mitteilungen.

Nachdruck verboten.

Studien über technische Pilze. VIII.

Der javanische Ragi und seine Pilze.

[Aus dem Techn.-chem. Laboratorium der Technischen Hochschule zu Hannover.]

Von C. Wehmer.

Mit 1 Tafel.

Dies Material entspricht ganz dem von Calmette als „levure chinoise“ bezeichneten, „Ragi“ ist die malayische Bezeichnung für das im Archipel ausschließlich von Chinesen hergestellte Fabrikat, jene pilzhaltigen Reismehlkuchen, wie sie in Südostasien für Verzuckerungszwecke allgemein in Gebrauch zu sein scheinen. Bei der Untersuchung javanischen Materials dürfen wir im Prinzip also wohl ungefähr dieselben Resultate erwarten; gleich dem in Hinterindien fabrizierten ist es der Sitz einer Reihe von Mucorineen. Fast hat es mir heute den Anschein, als ob ein Studium aller darin vorkommenden Species nicht weit von einer monographischen Bearbeitung der Gattung Mucor[1]) entfernt ist und ich bezweifle, diese zur Zeit allein durchführen zu können. Somit beschränke ich mich einstweilen auf die Hauptspecies.

Unter obiger Benennung wurden die javanischen „Pilzkuchen“ zuerst von Vordermann, Went und Prinsen Geerligs beschrieben und näher untersucht (cf. unten).

1. Der Ragi (javanische „Hefe“).

(Fig. 2 und 4 der Tafel).

Von der hier fehlenden centralen Durchbrechung abgesehen, ähneln die platten, kreidigen Reismehlkuchen ganz dem aus Singapore stammenden Material der chinesischen „Hefe“ und auch wohl — soweit das aus der Beschreibung Calmette's ersichtlich — dem von Saïgon, nur sind sie etwas derber und größer. Wenigstens gilt das für das mir vorliegende Muster aus Kagok-Tegal (Ostjava), das ich der Freundlichkeit des Herrn Professor Dr. Went verdanke. Zur Veranschaulichung ziehe ich auch hier die Abbildung einer längeren Beschreibung vor (Fig. 2). Die kreidigen, gut thalergroßen, etwas gewölbten, dicken Kuchen lassen sich leicht zu einem groben Pulver zerbröckeln, sind von nicht unangenehmem, schwach mehligem Geruch und weisen in Präparaten nach Abschwämmen des Reismehls (Fig. 4) unschwer mancherlei Pilzelemente (zumal stark lichtbrechende ovale, relativ dünnwandigere Gemmen) auf.

Man stellt sie auf Java bekanntlich in ganz ähnlicher Weise dar — also unter Verwendung aller möglichen für den eigentlichen Effekt

1) Von dieser liegen mir augenblicklich ungefähr 10 einander recht ähnliche Species in Kultur vor, deren sichere Unterscheidung und Bestimmung eine zeitraubende und mißliche Aufgabe ist.

wohl ziemlich belanglosen Zuthaten — wie auf dem Kontinent; die komplizierten Recepte der chinesischen Hefefabrikanten scheinen der Sache im ganzen nur einen etwas geheimnisvollen Anstrich geben zu sollen, die Chinesen wissen bekanntlich kaum, worauf es in den Reismehlkuchen im Grunde ankommt und folgen in dieser „Kunst" der auf alter Ueberlieferung begründeten rein empirischen Erfahrung, um so mehr werden sie aber auch Nebensächlichkeiten peinlich genau innehalten. Die vielerlei Zuthaten zu dem zu Teig gekneteten Reismehl sind schließlich weder notwendig noch überhaupt immer nützlich, ob derartiges nichtsdestoweniger praktisch empfehlenswert ist, läßt sich von hier aus freilich nicht beurteilen.

Zerrieben und befeuchtet, findet alsbald auch hier lebhafte Mucorineenentwickelung statt, rasch schießen ansehnliche Sporangienträger-Rasen in die Höhe, die, wie schon frhher erörtert, von Eijkman mit Unrecht als dem Mucor Rouxii zugehörig angesehen wurden. Auf gekochten Reis gestreut, erhält man jedoch gewöhnlich zunächst ganz sterile Vegetationen. Erstaunlich ist die Lebenszähigkeit der Keime, noch jetzt nach 5-jähiger Aufbewahrung giebt mir das gleiche Material in Kürze dichte Vegetationen, scheint also kaum durch die Zeit beeinflußt zu sein[1]). Besonders gilt das für die eine sehr reichlich vorhandene, gärungserregende Art, die ich gleichfalls in dem Material von Singapore fand (Mucor javanicus); neben ihr treten noch 2—3 andere quantitativ hervor. Mit diesen möchte ich mich weiterhin zunächst etwas näher beschäftigen.

Die Litteratur über den javanischen Ragi und seine Pilze weist gleichfalls nur einige weiter zurückliegende Arbeiten auf. Einer allgemeinen Darstellung Vordermann's[2]) folgten spezielle Feststellungen durch Went und Prinsen Geerligs[3]) sowie kürzere Angaben Eijkman's[4]); für uns kommen zumal die der letztgenannten in Betracht.

Went und Prinsen Geerligs isolierten aus den Reismehlkuchen an Mucorineen eine verzuckernde sporenlose Art (Chlamydomucor Oryzae), die sie eingehender studierten; der naheliegende Vergleich mit dem Amylomyces von Calmette schien ihnen für eine Verschiedenheit beider zu sprechen und sie hatten darin vollständig recht. Vergleichende Kulturen beider, wie ich sie anstellte, lassen die Unterschiede leicht hervortreten (cf. unten), überdies bildet ja der Amylomyces Sporangien. Nebenbei fanden sie eine zweite Art, einen echten Rhizopus, von ganz ähnlichem physiologischen Verhalten, den ich ebenfalls angetroffen habe. Sie vermuten, daß der Chlamydomucor vielleicht eine sporenlose Varietät dieses ist;

---

1) Für die Untersuchung wurde jedesmal Material von Kuchen (sorgfältig eingewickelt in Reispapier, in weiten Gefäßen mit Glasstopfen vor jeder nachträglichen Verunreinigung geschützt, aufbewahrt), die von der Originalhülle noch nicht befreit waren, genommen.

2) Analecta op bromatolologisch gebied. I. (Geeneskundig Tijdschrift voor Nederl. Indië. D. XXXIII. 1893. p. 359 ff.)

3) Beobachtungen über Hefearten und zuckerbildende Pilze der Arrakfabrikation. (Verhandelingen d. Koningl. Akad. van Wetenschappen t. Amsterdam. 2. Ser. T. IV. No. 2. 1895.)

4) Mikrobiologisches über die Arrakfabrikation von Batavia. (Centralbl. f. Bakt. Bd. XVI. 1894.)

in der That scheint auch mir manches dafür zu sprechen. Den Rhizopus halten dieselben für eine neue Species (Rh. Oryzae), was mir im ganzen freilich minder wahrscheinlich ist, doch ist es offenbar schwer, die bislang aufgestellten Rhizopus-Arten sicher voneinander abzugrenzen.

Unverkennbar hat dann auch Eijkman diesen Rhizopus in seinen Versuchen mit vor sich gehabt. „Schwarze Sporangien, braungefärbte, stark verzweigte Sporangienträger mit Rhizoiden, rundliche Sporen, große, kugelige Columella, Nährboden gänzlich schwarz durch die zahlreichen Sporangien" — all diese Merkmale passen überhaupt auf keine andere Art bezw. nicht auf einen Mucor. Die Verkennung der eigentlichen Sachlage verleitet ihn nun aber, diese wie auch sonstige leicht und reichlich sporangienbildende Species kurzerhand mit dem Pilze Calmette's (Amylomyces) zu identifizieren und unverkennbare Speciesmerkmale auf Varietätenbildung zu setzen. Es läßt sich Eijkman der Vorwurf kaum ersparen, daß er, statt Klärung zu schaffen, der Verwirrung Vorschub geleistet hat; der naheliegende Gedanke, daß in den Reismehlkuchen eine Reihe verschiedener Mucorineen vorkommt, liegt ihm ganz fern, Calmette[1]) selbst hat aber schon darauf hingewiesen.

2. Mucor javanicus n. sp.

Keime dieser Art fanden sich reichlich in den Hefekuchen von Singapore wie von Kagok-Tegal, in letzteren noch nach 5 Jahren entwickelungsfähig und in großer Zahl rasch auskeimend. Die weitgehende Uebereinstimmung der Sporangienträger mit denen des M. circinelloides ließ mich lange im Zweifel, ob die Species überhaupt als neu betrachtet werden kann; auf diesen Punkt komme ich weiter unten genauer zurück.

A. Morphologisches.

Zum Studium der Sporangienträger sind im allgemeinen Kulturen auf festen Substraten (Reis, Gelatine, Agar) geeigneter, auf Flüssigkeiten sinken die jungen Träger gelegentlich um oder entstehen überhaupt in geringerer Zahl bezw. erst nach Wochen, so daß man zunächst nur lockere, gelblichbraune, später orangegelbe Decken nebst farblosen, submersen Mycelien erhält. Insbesondere auf Reis erzielt man aber schon bei Zimmertemperatur üppige, 3—4 cm emporwachsende, dichte Sporangienrasen von mausgrauer bis graugelblicher Farbe, deren Sporangien bei geringer Größe wenig auffällig sind. Die Träger sind reich verzweigt, mit Ausnahme der Köpfchen stets schneeig-weiß. Zum näheren Verfolg der Verzweigungsart bearbeitet man am besten junge Kulturen mit der Lupe und zwar zweckmäßig solche auf Gelatine (schräge Oberfläche) im Reagenzglase; aus älteren Kulturen, zumal auf Reis, erhält man aus dem dichten Gewirr nur Präparate mit zerrissenen Trägern, die allerdings gleichfalls den sympodialen Aufbau unschwer erkennen lassen. Der junge Träger ist zunächst einfach, entwickelt aber alsbald einen oder mehrere

1) La levure chinoise. (Ann. de l'Inst. Pasteur. 1892.)

Seitenzweige, die nach terminalem Abschluß durch ein Sporangium wieder seitlich austreiben; auch diese Ausstülpungen schließen mit Sporangien ab und in ungefähr halber Höhe entsteht wieder eine neue Auszweigung, die gewöhnlich in einer anderen Ebene liegt (Wickel). Das setzt sich so fort und schließlich wird gegen die Spitze zu der (anfangs nicht immer deutliche) sympodiale Charakter ein ziemlich reiner. Genau genommen ist das Wachstum ein unbegrenztes, es setzt sich solange fort, als die Bedingungen dafür ausreichen (feuchte Atmosphäre, ein gewisser Halt, Nahrungszufuhr). Immerhin sind aber flüssige Substrate dem regelmäßigen Emporwachsen des Sporangienrasens nicht günstig, zumal im Brütschranke (37—40 ° C) sah ich ihn nie zur Entwickelung kommen (Würze, Rohrzucker, Dextrose).

Die Sporangienzahl eines Trägers kann hiernach natürlich eine sehr große sein, schon an jüngeren Trägern zählt man leicht 6—8; späterhin ist von einem Zählen in dem dichten Gewirr nicht mehr die Rede. Nach oben hin nimmt die Größe successiv ab, von ungefähr 50 μ auf 20 μ Durchmesser und weniger, ebenso wird auch hier — wie bei anderen ähnlichen Species — die Zerfließlichkeit der Wand gegen die Spitze hin geringer. Im übrigen sind Sporangien wie Columellen fast durchweg kugelig, erstere gelblichgrau bis bräunlich, durchscheinend, letztere farblos, beide glatt, und nur vereinzelt wurde ein Sporangium mit feinstacheliger Wand gefunden. Die Stiele sind meist lang und gerade, die nicht aufsitzende Columella groß, ihr Durchmesser nach oben im gleichen Verhältnis sinkend wie der der Sporangien (von ca. 35 μ auf 10 μ); stets ist wenigstens ein kleiner Kragenrest vorhanden; gelegentlich ist die Columella etwas verkürzt, aber auch verlängert (eiförmig).

Die Sporen bieten die auch bei verwandten Arten leider so häufige Unregelmäßigkeit bezüglich Größe und Gestalt. Letztere ist kugelig bis ellipsoidisch, die Größe mittlerer Exemplare stellt sich auf ungefähr 5—7$\times$4—5 μ resp. 5—6 μ Durchmesser; kleine messen ca. 3,5$\times$3 μ, größere ein Geringes mehr. Sie sind glatt, dünnwandig, hell, farblos. Von denen einiger ähnlicher Species sind sie nicht zu unterscheiden.

Gemmen entstehen reichlich auf dem Substrate sowie innerhalb, zumal auch von Flüssigkeiten, wo ihre Ansammlungen schon dem bloßen Auge innerhalb der flottierenden Massen als gelbliche oder farblose Pünktchen hervortreten (Kugelgemmen). Sie sind meist ziemlich dünnwandig, farblos, stark lichtbrechend oder gelblich mit körnigem Inhalt (gelegentlich auch mit größeren gelben Oeltropfen), kugelig, oval oder unregelmäßig, durchweg relativ klein, d. h. an Durchmesser den der vegetativen Fäden meist nicht unmäßig überschreitend (wie z. B. bei M. Rouxii oder Chlamydomucor Oryzae). Man muß auch hier 2 Typen unterscheiden: a) echte Gemmen („Hyphengemmen"), entstehend durch Kontraktion des Plasmas an lokalisierten Stellen der übrigens leer werdenden und kollabierenden Hyphen; dabei kommt es also zur Bildung einer besonderen Haut innerhalb der ursprünglichen Zellwand. b) Solche, die durch Querteilung (und Anschwellung) der Hyphen entstehen, also mehr den Oidien gleichen („Kugelgemmen"). Letztere

sind bei unserer Art meist größer, farblos, hell, wenig lichtbrechend, doch etwas derbwandiger (1—2 μ, erst bei Plasmolyse hervortretend); sie entstehen reichlich und nesterweise, zumal in Zuckerlösung, schwellen alsbald kugelig an und machen bei dem sehr variablen Durchmesser [1]) nach ihrer Trennung den Eindruck von Hefe („Kugelhefe"). Ich habe jedoch Sprossungsvorgänge nicht beobachtet, auch die Wanddicke (cf. Abbildung) spricht schon dagegen; ob sich das unter anderen Verhältnissen ändert, lasse ich dahingestellt, jedenfalls haben diese Gebilde mit den durch unseren Mucor eingeleiteten Gärungserscheinungen nichts zu schaffen, sie entstehen auch in Substraten, wo diese fehlen (so z. B. Milchzucker). Interessant ist der Vergleich mit den unter ganz gleichen Umständen (10-proz. Dextroselösung mit Nährsalzen) und ebenso entstehenden, gleichfalls kugeligen, doch meist gefärbten, sehrgroßen (bis 100 μ), kolossal derbwandigen Gemmen des M. Rouxii. Einzelheiten ergiebt die Abbildung (Fig. 15).

Zygosporen kamen nirgends zur Beobachtung, dürfen also einstweilen als nicht vorhanden angesehen werden; ob sie bei anderer Kultur entstehen, bleibt aber offen.

Das vegetative Mycel bietet nichts Charakteristisches, das helle Plasma der im Mittel 12—15 μ dicken Hyphen enthält mehrfach, zumal in älteren Kulturen, gelbe Oeltröpfchen, die aber nie so auffällig werden wie die gleichen Gebilde bei M. Rouxii, wenngleich sie die auf Zuckerlösungen gewachsenen sporangienlosen Decken späterhin hell orangelb färben können, ihnen so ein dem des M. Rouxii ähnliches Aussehen gebend.

Hefebildung. Eine wirkliche kleinzellige ovale Sproßform wurde neben den Kugelgemmen mehrfach in älteren Kulturen (Rohrzucker, Milchzucker, Dextrose) beobachtet — ohne Gärwirkung —. Dimensionen 5—6$\times$3—4 μ. Bis zum strikten Nachweise des genetischen Zusammenhanges lasse ich sie aber wohl mit Recht völlig außer Diskussion.

B. Physiologisches.

Die Art wächst ungemein leicht und schnell schon bei Zimmertemperatur auf verschiedenen Substraten. Am günstigsten ist Reis (gedämpft) oder Malzauszug (verzuckert), aber auch Gelatine, Stärkekleister, Nähragar, Rohrzucker- oder Traubenzuckerlösung (mit Nährsalzen) [2]) sind noch gut, während Milchzucker ganz minderwertig ist und nur sehr dürftige Vegetationen aufkommen läßt. Das gilt auch für Brüttemperatur, wie überhaupt das Optimum oberhalb 30°, ungefähr bei 35—40° C liegt. Auf den

1) Dieser wird zunächst durch die Dicke der zerfallenden Hyphen bestimmt, kann also bei jungen Mycelverzweigungen auf Bruchteile (ein Viertel und mehr) heruntergehen. Grenzen ca. 4—20 μ. Die Bezeichnung als „Hefe" (Mucor-H., Kugel-H.) ist wenig glücklich, auch wohl irrtümlich entstanden.

2) Für alle mit diesen verschiedenen Pilzarten (früher auch schon mit Amylomyces) angestellten Kulturversuche versteht sich bei ca. 10 Proz. des Zuckers eine aus Mineralsalzen mit Pepton zusammengesetzte Nährlösung, die in größerer Menge vorrätig gehalten, also überall ganz gleicher Zusammensetzung war (cf. das bei M. Rouxii Gesagte). Als Kulturgefäße dienten in den vergleichenden Versuchen vorwiegend Reagenzgläser mit 10—15 ccm der Nährlösung, sonst auch Kolben verschiedener Art.

flüssigen Substraten entstehen zunächst vorzugsweise niedere gelbliche Decken, seltener hohe graue bis schneeige Sporangienrasen wie auf Gelatine oder Agar; auf Reis sind diese durch zahlreichere Sporangien etwas dunkler (bräunlich-grau) gefärbt, ähnlich auf Kleister von Kartoffelstärke. Gelegentlich geht dadurch die Farbe selbst in ein helleres Graubraun (Mausgrau) über, so daß hier einige Variabilität herrscht, und der Erfolg im wesentlichen von der mehr oder minder reichlichen Sporangienbildung abhängt: übrigens schwankt die Farbe des Sporangiums zwischen licht Braungelb (oft auf Würze-Zuckerlösungen) und Graugelb bis Graubraun (Reis, Stärke). Gerade spätere Sporangien scheinen mir dunkler an Farbe.

Aussaat in flüssige Substrate ergiebt ähnlich wie bei anderen Mucorineen zuerst submerse Mycelien — im Gegensatz zu vielen sofort oberflächliche Decken bildenden Schimmelformen (Aspergillen, Penicillien u. a.) — aus ihnen entwickeln sich aber durchweg schon in den ersten Tagen lockere Decken oder doch größere oberflächliche Polster, was bei Mucor Rouxii nur unter ganz besonders zusagenden Verhältnissen (Würze als Substrat) der Fall war. Allerdings ist auch für M. javanicus gerade Würze (verzuckerter Malzauszug) das bei weitem beste Substrat, aber auch Rohrzucker- oder Dextrosenährlösungen liefern nach Kurzem Deckenbildung, die ungemein dürftig — fast Null — ebenfalls auf Milchzucker eintritt. Bei Mucor Rouxii kam solche selbst im Brütschrank auf diesen 3 Nährsubstraten überhaupt nicht zur Beobachtung, entstand also nur auf Würze (und Inulin[1]), sowie schwächer und langsamer auf Maltose. Diese Verhältnisse erscheinen immerhin der Beachtung wert.

Unter optimalen Bedingungen (37°) ist die Entwickelung derart, daß schon nach 1—2 Tagen die Mycel- oder Sporenaussaat ansehnliche Vegetationen liefert; nach 16 Stunden hat man auf gedämpftem Reis nach Sporenaussaat (Platinnadel) schon ein sich zur Sporangienträgerentwickelung anschickendes Mycel von über Linsengröße; ähnliches auch innerhalb eines Tages in Malzauszug oder Rohrzuckerlösung. Es steht die Wachstumsschnelligkeit bei Brütwärme ungefähr der des „Amylomyces“ gleich, übertrifft diese bei Zimmertemperatur aber um ein vielfaches. Die gedämpften Reiskörner werden dicht umsponnen und durchwachsen, eine merkliche Zuckeransammlung ist allerdings, zumal in älteren Kulturen, nicht nachweisbar. Einige Versuche zur Verzuckerung von Kartoffelstärkekleister (10 Proz.) waren negativ, trotz der ansehnlichen Pilzdecke blieb der Kleister auch nach Wochen in seiner Hauptmasse unverändert und es gab auch die mit Wasser verrührte längere Zeit bei 60° gehaltene Masse keine Reduktion Fehling'scher Lösung, was z. B. bei Chlamydomucor, Amylomyces u. a. der Fall ist[2]).

Das Gelatine-Verflüssigungsvermögen ist ähnlich träge und nur wenig besser als bei M. Rouxii (15° C). Es können Wochen bis zur Verflüssigung nur der oberen Schichten vergehen; späterhin

---

1) Inulin (mit Nährsalzen) wurde nur für M. Rouxii geprüft, der auf ihm alsbald vollständige Decken bildet, sowie Alkohol aber kein Gas erzeugt.

2) Diese Verhältnisse bedürfen noch der Aufklärung durch weitere Versuche. Es sei übrigens auf die Angaben von Wijsman sowie Went verwiesen.

wird freilich der ganze Inhalt der Reagenzgläser (Strichkultur auf schräger Oberfläche) dünnflüssig, ohne stärkere Verfärbung (gelblich). Etwas höhere Temperatur wirkt auch hier beschleunigend. Besondere Substratverfärbungen (Reis u. a.) werden nicht beobachtet, obschon vielfach der Zellinhalt auch bei dieser Art goldgelbe Färbung (öfter Oel in Tröpfchen) annimmt.

Gärungserscheinungen treten lebhaft in zuckerhaltigem Malzauszug ein, wo bei 37 ° schon 1—2 Tage nach Aussaat (Sporen oder Mycel) sich größere Gasblasen an den Mycelien oder unter der Decke ansammeln; minder stark sind sie in Dextroselösungen (10—15 Proz. mit Nährsalzen), deren Zersetzung langsamer verläuft und völlige Vergärung durch eine große Decke auch nach Monaten nicht stattfand (20 und 37 °). In Versuchen mit anderen Zuckern (Rohrzucker, Milchzucker) kamen Gasblasen nicht zur Beobachtung, trotzdem Rohrzucker sonst ein gutes Substrat ist. In allen Fällen wurde aber Alkoholbildung durch die Jodoformreaktion unschwer nachgewiesen. Naturgemäß ist sichtbare Gasentbindung nur der Ausdruck einer sehr lebhaften Zersetzung, sie giebt aber gar keinen Maßstab dafür, ob nun überhaupt Alkohol gebildet wird oder nicht. So bildete ja auch Mucor Rouxii aus allen versuchten Kohlenhydraten (Dextrose, Lävulose, Galaktose, Maltose, Rohrzucker Milchzucker, Inulin) mehrfach bei ganz kümmerlichem Wachstum leicht nachweisbare Alkoholmengen, obschon nur Würze gleichzeitig Gasentbindung zeigte. Alkoholische „Gärung" ohne sichtbare Gasentwickelung ist selbstverständlich nicht bloß denkbar, sondern offenbar sehr verbreitet, der Alkohol ist ein bei Pilzen recht häufiges Stoffwechselprodukt des Kohlenhydratumsatzes.

Daß die Alkoholbildung nicht mit einer „Kugelhefe"-Entstehung zusammenhängt, sondern derselbe ein Produkt der normalen Hyphenthätigkeit ist, wurde oben bereits erwähnt; die scheinbare „Hefe" unserer Species ist kein Sproßzustand, und so bleiben auch die „gärenden" Würzelösungen wasserhell, ohne Trübung [1]) und den für Hefevegetationen charakteristischen stärkeren Bodensatz — vorausgesetzt natürlich, daß sie gut sterilisiert und keine Infektion durch Hefe stattfindet. Andererseits geben auch die Sporenaussaaten — gleichwie solche submerser Mycelien — in neue Nährlösung nicht Sproßzell- sondern Mycelbildung mit nachfolgender Gemmenentwickelung. Uebrigens entwickeln nicht bloß submerse Mycelien in Würze Gasblasen, sondern — ebenso wie bei Mucor Rouxii auf Würze — auch die obenschwimmende Decke, und zwar gerade diese sehr lebhaft. Der Name „Kugelhefe" sollte überhaupt ganz verschwinden.

C. Vergleich mit ähnlichen Species.

Es kommen danach allein Mucor circinelloides und Mucor alternans in Betracht. Die Sporen des letzteren sind nach der

1) Das wurde übrigens schon von Pasteur als für die Mucor-Hefe charakteristisch angegeben und auch von Gayon betont (M. circinelloides). Bodensatzbildung erhält man überhaupt selbst in Versuchen mit 250 ccm Nährlösung und nach Monaten nur sehr schwach, auch steigt von ihm kein Gas auf. Eine zwingend als Sprossung zu deutende Figur finde ich bei Gayon nicht, die Bilder ähneln ganz den meinen; cf. unten. Gleiches gilt für die Figuren boi Bainier, die ungezwungen alle auf Zerfalls- und nicht auf Knospungserscheinungen deutbar sind (Taf. VII).

Beschreibung (A. Fischer l. c.) aber stets deutlich gestreckt (5—7 × 2—3 μ), so daß wir ihn hiernach vielleicht vernachlässigen dürften. Aehnlicher ist schon M. circinelloides, bei dem vieles geradeso liegt, auch die Sporen fast gleich sind (rundlich ellipsoidisch oder kugelig, 4—5 × 3 μ) und Gemmen- wie „Kugelhefe"-Bildung beobachtet ist. Die Columella wird hier aber als halbkugelig oder fast kugelig angegeben, insbesondere soll die Art charakteristische rotbraune Zygosporen bilden. Derartige nicht zu übersehende Bildungen sind bei M. javanicus auf keinem der benutzten Substrate zur Beobachtung gekommen; ob sie auf Pferdedünger entstehen, wurde nicht geprüft.

Uebrigens verhehle ich mir die Schwierigkeit einer Abgrenzung keineswegs und bei Betrachtung der Abbildungen von M. circinelloides und M. alternans wird man zunächst die Frage stellen dürfen, ob denn diese beiden überhaupt verschieden sind [1]). Gayon [2]) sowie Gayon und Dubourg [3]) bilden für beide Sporangienträger und Sporen ab, die selbst bei einigem guten Willen gestaltlich nicht zu unterscheiden sind, auch die „Kugelhefe" ist genau dieselbe. Nur zeichnet Gayon für M. circinelloides eine eigentümliche ovale Columella, die Bainier [4]) dann wieder halbkugelig abbildet, während hingegen die von M. alternans (Fig. 4 p. 547 l. c. [2]) ganz der unserer Art entspricht; auch nennt Bainier die Sporen rund. Man kommt da also kaum zu einer klaren Vorstellung, denn es ist nach alledem nicht ausgeschlossen, daß diese 3 Arten zu einer zusammenzuziehen sind, und ein vergleichendes Studium — für das mir leider das Material fehlte — wäre da sehr erwünscht. Bis dahin müssen wir wohl oder übel alle 3 noch gelten lassen. Allerdings sollen die Sporangienträger des M. alternans mit ± 10 Sporangien weniger als millimeterhoch (0,4—0,7 mm) sein, die größten Sporangien nur 25 μ und die Columella ca. 14 μ Durchmesser haben (nach den Figuren bei Gayon und Dubourg berechnet), während Fischer die Rasen bei M. circinelloides als bis 1 cm hoch angiebt; vielleicht sind aber die Vergrößerungszahlen Gayon's nicht ganz zutreffend, doch nennt auch Bainier die Art „sehr klein"; leider geben die Diagnosen Zahlenwerte hier überall nur für die Sporen an [5]). Bei solcher Sachlage ist der Vergleich eine recht undankbare, fast resultatlose Arbeit.

Wollen wir noch die physiologischen Merkmale heranziehen, so liegt das ähnlich. Beide Arten sollen Rohrzucker nicht vergären (dagegen Maltose, Dextrose u. a.), weil sie „kein invertierendes Enzym" bilden. Diese älteren Angaben sind freilich bisweilen derart, daß man sich schlecht zurecht finden kann, überdies hat zu-

1) Das schließt auch Fischer schon nicht aus. (l. c. p. 206.)

2) De la fermentation alcoolique avec le Mucor circinelloides. (Mem. de la Soc. d. Scienc. de Bordeaux. 2. sér. T. II. Paris 1878. p. 249 u. f. Mit Tafel.)

3) De la fermentation de la dextrine et de l'amidon par les mucors. (Ann. de l'Inst. Pasteur. Bd. I. 1887. p. 532 u. f. Mit Tafel.)

4) Nouvelles observations sur les spores des mucorinées. (Ann. d. Scienc. nat. X. sér. Botan. T. XIX. Paris 1884. p. 200 u. f. Mit Tafel.)

5) M. circinelloides wird zuerst von van Tieghem (1875) genannt (Nouvelles recherches sur les mucorinées in Ann. d. Scienc. nat. X. sér. Botan. T. I. Paris 1875. p. 94), doch auch ohne genauere Beschreibung; Autor nennt ihn aber „très-petit".

nächst Gayon ersichtlich noch nicht mit reinen Kulturen gearbeitet (cf. p. 258 l. c.). Man vermißt mehrfach die präzise Angabe, ob nun Rohrzucker überhaupt nährfähig ist oder nicht[1]); das müßte doch vor allem einmal scharf hervorgehoben werden. Wenn das der Fall, so ist es im Grunde doch ziemlich gleichgiltig, ob ihn der Pilz vorher spaltet oder nicht; die Lebhaftigkeit der Zersetzung wird dann in erster Linie Frage der experimentell festzustellenden mehr oder minder günstigen Lebensverhältnisse sein. Die Litteratur spitzt hier aber alles auf Enzym, Kugelhefe und Gasentwickelung (= Gärung) zu.

Thatsache ist, daß für unsere Art Rohrzucker[2]) ein ganz gutes Substrat abgiebt, und das gilt in gleicher Weise für einige andere vergleichend kultivierte Species, nicht dagegen für M. Rouxii. Weiter bildet M. javanicus gleichwie andere Arten aus Rohrzucker auch Alkohol — das Kriterium der alkoholischen Gärung ist also trotz des Fehlens der äußeren Phänomene vorhanden. Ich muß gestehen, daß es mich unter solchen Verhältnissen wenig stört, ob nun ein besonderes invertierendes Enzym oder die ebensogut vorstellbare direkte Plasmawirkung das Doppelmolekül des Zuckers spaltet. Der Pilz spaltet sogar aus dem sehr schlecht nährenden Milchzucker etwas Alkohol ab.

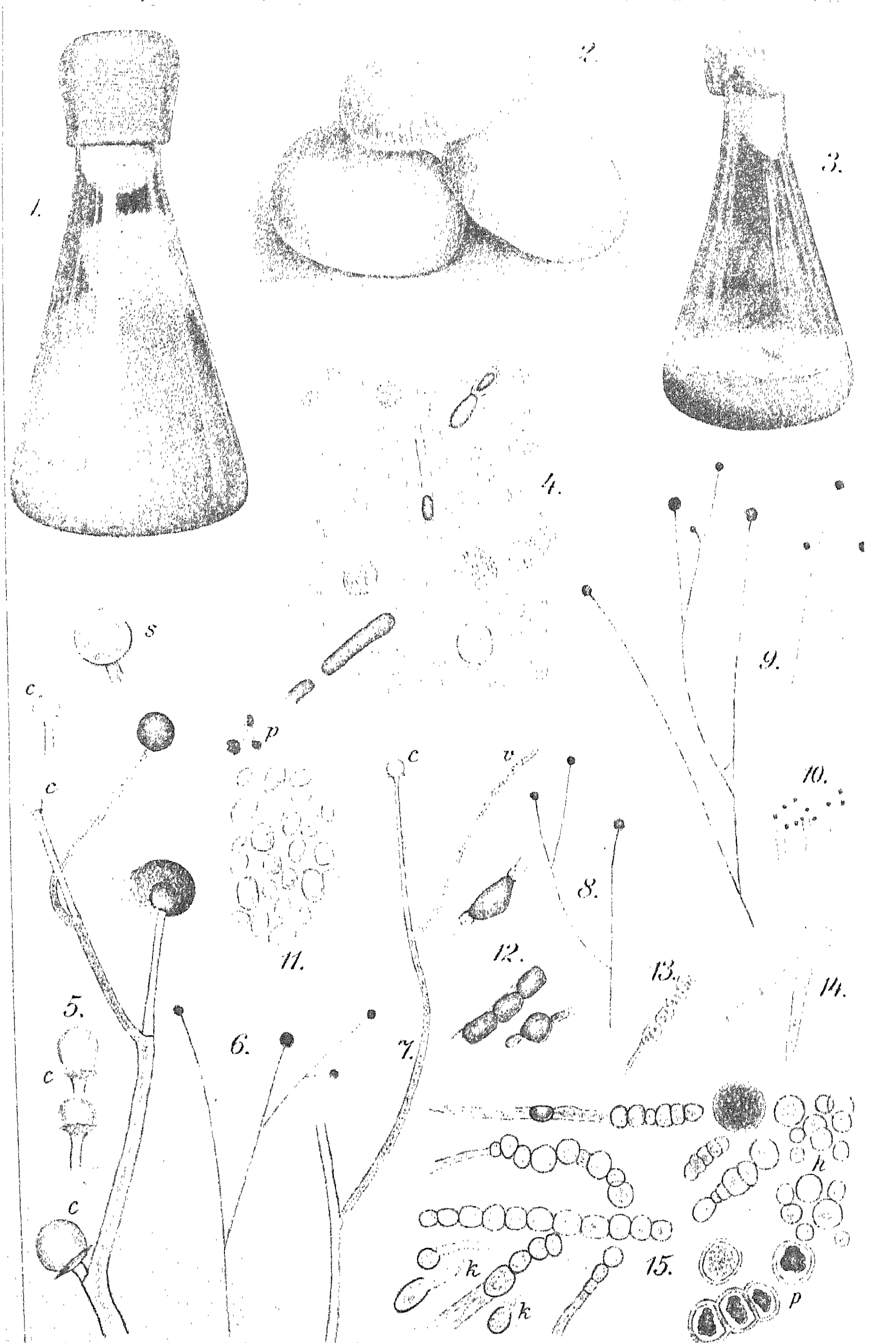
Wenn Würze besonders leicht und unter sichtbaren Gärungserscheinungen verarbeitet wird, so liegt das — wie ich schon bei M. Rouxii hervorhob — an der offenkundig besonders günstigen Gesamtzusammensetzung dieses Substrates — nicht bloß an dem Maltosegehalt, denn dann müßten Nährlösungen mit Maltose, Dextrose, Lävulose gerade so rasch zersetzt werden, was nicht der Fall war. Aus jener Thatsache allein wird also niemand schließen dürfen, daß der Pilz nur ein maltosespaltendes Enzym entwickelt. Ob nicht M. circinelloides gerade so gut aus Rohrzucker unter guter Vegetation Alkohol bildet, bleibt demnach zuvor noch festzustellen. Es lassen also auch — worauf es hier ankommt — die physiologischen Angaben älterer Autoren keinen klaren Entscheid über das Verhältnis ihrer Pilze zu M. javanicus zu.

Säurebildung in Zuckerlösungen ist kaum merklich (Milchzucker) oder schwach bis deutlich hervortretend (Würze, Rohrzucker, Dextrose, die blaues Lackmus oft sofort röten). Die Natur der Säure wurde bislang nicht näher verfolgt.

---

1) Gayon und Dubourg sagen jedoch (l. c. p. 535), daß M. alternans auf Rohrzuckerlösung unter Mycel- wie Sporangienträgerbildung wächst; er soll hier also nur keine „Kugelhefe“ bilden („grosses cellules sphériques très bourgeonnées“) und keine Gärungserscheinungen erregen, da er kein Invertin erzeugt. Die von den Autoren abgebildete Kugelhefe (Fig. 10 l. c.) entspricht völlig den Kugelgemmen, die bei meinen Pilzen weder mit den Gärungserscheinungen noch mit der Alkoholentstehung etwas zu schaffen haben. — Nachdrücklich und mit vollem Recht wandte sich bereits Brefeld („Untersuchungen“. 1889. Heft 8.) gegen die Bezeichnung jener Gemmen als „Hefe“; sie ist unrichtig und irreführend. Uebrigens giebt auch Bainier für M. circinelloides schon kurz an, daß die Gegenwart des „Ferment“ nicht notwendig mit der Entstehung von Alkohol verknüpft ist (l. c. p. 206).

2) Es muß jedoch bemerkt werden, daß schon durch das Sterilisieren der Kulturlösungen (im Dampfcylinder) eine partielle Hydrolyse zustandekommt; inwieweit das für die Resultate mit in Frage kommt, lasse ich ausdrücklich ganz dahingestellt. Mit dem gleichen Umstande hätten ja auch frühere Untersucher zu rechnen gehabt.



C. Wehmer gez. Verlag von Gustav Fischer in Jena. Lith. Anst. v. K. Wesser, Jena.

Javanischer Ragi und Mucor javanicus

D. Diagnose.

Mucor javanicus nov. spec.

Sporangienrasen erst niedrig, mausgrau, bei voller Entwickelung hoch (2—3 cm), dicht spinnwebig, weißgrau, gelblich, auch schwach hellbräunlich; auf festen Substraten, meist auch in alten Kulturen (unter Watteverschluß) noch aufrecht, nur ausnahmsweise umsinkend; auf Flüssigkeiten zunächst oft fehlend (nur gelbliche Decke). Sporangienträger sich allmählich reich verzweigend (sympodial) mit vielen Sporangien (6 und darüber), scheinbar fast unbegrenzt fortwachsend und bald über 1 cm hoch; Stiele schneeweiß. Sporangien hell bis gelblich oder schwach bräunlich, bis graubraun, klein, transparent, zerfließlich, kugelig, glatt (seltener stachelich), nach oben an Größe und Zerfließlichkeit abnehmend, meist lang- und geradstielig; untere ca. 50 μ Durchmesser, nach oben bis 18 μ herunter, Stiele von 10—3 μ abwärts dick. Columella meist kugelig (doch auch etwas länger oder kürzer), farblos, glatt, nicht aufsitzend, mit kleinem Basalkragen, Größe ungefähr 35 μ (untere) bis auf 10 μ herunter (obere). Sporen ungleich, kugelig-länglich, 5—7 $\times$ 4—5 μ, auch 4—7 μ Durchmesser (kleinere bis 3,5 $\times$ 2,8 μ), hell, glatt, dünnwandig. Gemmen farblos oder schwach gefärbt (gelblich), ohne auffällige Merkmale, sowohl isoliert durch Plasmazusammenziehung wie reihenweis durch Querteilung von Fäden entstehend, letztere kugelig, hell (hefeähnlich, doch nicht sprossend), reichlich in Zuckerlösungen. Zygosporen fehlen. Mycel farblos oder gelblich (gefärbter Zellinhalt), Hyphen 12 μ und darüber dick.

Vorkommen: In chinesischer und javanischer „Hefe" (Ragi).

Wächst gut auf den verschiedensten Substraten, wie Reis, Würze, Gelatine, Agar, Zuckerlösung (Dextrose, Rohrzucker — schlecht in Milchzucker) — Kleister, auch bei 15—20° C, schneller oberhalb 30° C (Optimum bei ca. 35°) und noch bei 40°. Entwickelt in Würze- und schwächer in Dextroselösung Gasblasen („Gärung"), bildet aber auch in Rohrzuckerlösung (reichlich) und Milchzucker (Spuren) Alkohol.

Verflüssigt Gelatine nur langsam erst nach Wochen (15° C). Säuert Zuckerlösungen an.

Tafelerklärung[1]).

Mucor javanicus nov. spec.

Fig. 1. Kultur auf gedämpftem Reis.
Fig. 2. Javanischer Ragi von Kagok-Tegal (etwas verkl. ca. $^3/_4$).
Fig. 3. Kultur des Mucor auf Zuckerlösung (15°).
Fig. 4. Präparat aus dem Ragi (nach Abschwämmen der Stärke).
Fig. 5—10. Sporangienträger. Fig. 5 u. 7: Mikroskopische Präparate, die übrigen nach Lupenvergrößerung auf Gelatine, 8-tägig; Fig. 10 annähernd natürliche Größe. *s* = Sporangium (ausnahmsweise mit feinen Nädelchen), *c* = Columellen, *v* (Fig. 7) = fortwachsende Spitze des Trägers.
Fig. 11. Sporen (bei *p* durch Glycerin plasmolysiert).
Fig. 12—13. Gemmen von Reiskultur (Hyphengemmen).
Fig. 14. Submerses Hyphenende mit beginnender Querwandbildung (Anfang der Kugelgemmenbildung).
Fig. 15. Kugelgemmen aus Dextroselösung, allmähliche Ausbildung und freie Stadien (hefeähnlich bei *h*); bei *p* = plasmolysierte, *k* = keimende Exemplare.

1) Die Vergrößerungen ergeben sich aus den Zahlenangaben des Textes. Die Erlenmeyer-Kolbenkulturen, sowie die 3 Ragikuchen nach Photographie reproduziert, erstere etwas verkleinert.

Original-Referate aus bakteriologischen und gärungsphysiologischen Instituten, Laboratorien etc.

Arbeiten der botanischen Abteilung der Versuchsstation des Kgl. Pomologischen Instituts zu Proskau.

II. Bericht.

Von Dr. **Rud. Aderhold**, Leiter der Abteilung.

Mit einer Tafel.

(Schluß.)

Hinsichtlich der Bekämpfung sind neue Erfahrungen nicht gemacht worden. Es wird aber größeres Gewicht auf die winterliche Bekämpfung gelegt, als bisher zu geschehen pflegt. Als solche ist notwendig: 1) Entfernung des gefallenen Laubes noch im Herbst, da es zu dieser Zeit weniger brüchig ist als im Frühjahre. 2) Wenigstens einmaliges Bespritzen der Bäume mit Kupfermitteln zu Winterausgang vor Beginn des Triebes. Letztere Maßregel ist notwendig, da bei der rußtauähnlichen Natur unserer Pilze deren Ueberwinterung auf den Trieben viel weiter reicht als der Grind. Für diese winterliche Bespritzung darf man unbedenklich eine $^1/_2$-proz. kalkfreie Kupfervitriollösung verwenden, die sich billiger stellt, giftiger ist und sich hier gleich unschädlich erwiesen hat wie die Bordeauxbrühe. Da die winterliche Behandlung billiger und leichter durchführbar ist als die 3malige Frühjahrsbespritzung mit Bordeauxbrühe, deren Rentabilität man in Gegenden, wo der Obstbau infolge klimatischer Verhältnisse nicht jährliche Rente bringt, noch bezweifeln kann, so läßt sie sich vielleicht eher allgemein einführen als diese und würde dann auch allgemein gewiß schon schöne Erfolge zeitigen. Jedwede Behandlung aber sollte nicht auf die tragbaren Bäume beschränkt bleiben, sondern schon in den Baumschulen statthaben, da es sehr schwer ist, den einmal stark befallenen Baum wieder völlig vom Pilze zu befreien.

Eine Wurzelkrankheit junger Obstbäumchen.

Im vorigen Berichte[1]) wurde eine Krankheit von Baumschul-Kirschbäumchen erwähnt, bei welcher ein als Cylindrophora alba Bon. und ein als Septocylindrium spec. bezeichneter Pilz beobachtet wurde. Diese Krankheit ist im vorigen Jahre weiter studiert worden. Es lag um so mehr Veranlassung dazu vor, als die bis in alle Einzelheiten gleiche Erscheinung im laufenden Jahre von zwei verschiedenen Baumschulen, diesmal aber an Apfelbäumchen eingesandt wurde. Der eine Erkrankungsfall wurde wie der der Kirschbäumchen aus Schlesien, der andere aus Schleswig gemeldet. Auch die Apfelbäumchen starben Mitte Sommer plötzlich ohne ersichtliche Ursache, in der schlesischen Baumschule etwa zu 5 Proz. der Gesamtzahl, ab.

Das Absterben ging unzweifelhaft von der Wurzel aus. Stärkere

1) Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. V. p. 524.

Wurzeln ließen erkennen, daß sich zuerst die Cambiumschicht bräunte, daß aber von da aus Rinde und Holz alsbald völlig zu Grunde gingen. In den toten Geweben der Wurzeln fanden sich unglaubliche Massen krystallinischer Art, die manche Zellen ganz verstopften und deren Entstehung unerklärt blieb. Im toten Holze traten Gummimassen auf. Mycelien waren in allen Teilen zu finden. Besonders rein erschien die Verpilzung aber an den schlesischen Apfelbäumchen, deren Verhalten daher zunächst geschildert sein mag.

Sie kamen Mitte August in meine Hände mit der Angabe, daß das Absterben der Bäumchen seit etwa Mitte Juli sichtbar geworden sei. Einzelne Wurzeln zeigten schon bei ihrer Ankunft, alle anderen nach mehrtägigem Verweilen in feuchter Kammer ein weißes Mycel auf ihrer Oberfläche, das sich unter dem Mikroskop und in der späteren Kultur als identisch dem früher von mir Cylindrophora alba Bon. genannten Pilze erwies. Das genaue Studium derselben hat mir jedoch gezeigt, daß er in die Gattung Fusarium zu bringen ist und wahrscheinlich dem Fusarium rhizogenum Pound. et Clem. identisch ist, von dem Saccardo, Sylloge Bd. XI. p. 649 folgende Diagnose giebt:

Fusarium rhizogenum Pound. et Clem. Bot. Surv. Nebr. Rep. III. 1893, 12 : Hab. in radicibus Piri Mali plantularum, Lincoln Nebraska Americ. Vor. — Sporodochia superficialia, 1—2 mm lat. densa, convexa, ex alba flava; hyphae dense intertextae, adscendentes, septatae, subramosae; conidia oblonga, utrinque rotundata, 1-septata 70 ≍ 4 (an potius 10 ≍ 4 setzt Saccardo hinzu) in ramulis aerogena.

Es ist allerdings zunächst nur das gleiche Vorkommen, welches mich veranlaßt, an eine Identität dieses Pilzes mit dem von mir beobachteten zu denken. Leider ist mir die Arbeit von Pound und Clements nicht zugänglich gewesen, um daraus vielleicht Genaueres ersehen zu können. Die folgende genaue Beschreibung meiner Beobachtungen setzt den Leser in den Stand, selbst zu ermessen, wie weit unsere Befunde sich mit der kärglichen Diagnose vereinbaren lassen.

Auf den feucht liegenden Wurzeln traten neben spinnewebartig die Wurzeln umziehenden Einzelhyphen Hyphenhäufungen (Sporodochia) auf, die bald locker wollig, bald polsterartig fest waren und weiß aussahen. In den festeren Polstern entstanden die Sporen am Ende dicht gedrängter Träger einzeln und waren fast alle gleichartig 4-zellig (cf. 1-septatis bei Sacc.), wurstförmig, gerade oder gekrümmt, 38—45 : 4—5 μ (cf. Fig. 1 bei *c*). Nur in geringem Prozentsatze fanden sich dazwischen kleine 1- und 2-zellige (cf. Fig. 1 *a*, *b*). Diese waren jedoch viel häufiger in den lockeren (jüngeren) Vegetationen und entstanden hier an solitären Fäden, während daneben rhizomorphenartige Stränge vorkommen, aus denen verzweigte oder unverzweigte Träger mit ganz denselben Sporen entsprangen, wie in den festen Lagern. Es waren somit zwischen 1- und 4-zelligen, geraden und gebogenen, 10—46 : 4—9 μ großen Sporen alle möglichen Formen vorhanden (cf. Fig. 1), so daß es zweifelhaft und doch wieder wahrscheinlich schien, als ob alle einem einzigen Pilze angehörten. Daß dem so sei, konnte nur die Tropfenkultur entscheiden.

Am 20. August wurden daher Sporen der großen, cylindrischen 4-zelligen Art in Tropfen von Kirschblattdekokt ausgesät. Sie keimten innerhalb weniger Stunden, indem zumeist nur aus beiden Endzellen je ein Keimschlauch, manchmal auch noch aus der mittleren Zelle ein solcher vorbrach. Die Spore selbst schwoll dabei etwas an, derart, daß sie an den Scheidewänden leichte Einschnürungen zeigte. Schon nach 2 Tagen begannen die jungen Mycelien in einzelnen, viele Keimlinge bergenden Tropfen Conidien zu bilden, während derselbe Prozeß in weniger zahlreich besetzten Kulturen etwas später begann. Die Conidienbildung fand untergetaucht und an der Luft statt. Die Sporen entstanden auf farblosen, verzweigten oder unverzweigten Hyphen endständig, einzeln, aber so, daß derselbe Träger nach jedesmaligem Sporenabfalle viele Sporen nacheinander erzeugte. An den in die Luft hinausragenden Trägern blieben die Conidien desselben Trägers zu Köpfchen verklebt (cf. Fig. 2). Die zuerst gebildeten Sporen maßen nur 12—15 : 4 μ und waren ein-, höchstens zweizellig. Allein nach weiteren 24 Stunden waren auch größere entstanden und nach 4 Tagen waren alle Größen und Formen vertreten, wie sie auf dem natürlichen Substrate beobachtet wurden. Derselbe Conidienträger vermochte ein- bis mehrzellige, bis zu 45 : 9 μ große Sporen hervorzubringen.

Stromatische Mycelhäufchen kamen in den Tropfen nicht zustande und dieser Umstand hatte mich früher bei der Kultur des ganz gleich sich verhaltenden Kirschenpilzes veranlaßt, denselben nicht in die Gattung Fusarium zu bringen, sondern, irregeführt durch eine Abbildung in Bonorden's Handbuch, Fig. 31 und die zuerst gebildeten einzelligen Sporen, als Cylindrophora alba Bon. anzusprechen — eine litterarische Art, die vielleicht in der That nur ein Entwickelungszustand eines Fusariums ist. Soweit geschildert, stimmt unser Kulturresultat mit dem überein, welches Brefeld (Unters. a. d. Ges. Geb. d. Mykol. Bd. X. p. 173. Taf. IV. Fig. 22—24) bei Kultur von Nectria coccinea (Pers.) erhielt, und die von ihm gegebenen Abbildungen können direkt auf unseren Pilz übertragen werden; nur sah ich die Sporen meines Pilzes nie mehr als 4-zellig. Wesentlich abweichend verhielt sich aber nun der weitere Verlauf derselben.

Ich habe in der früheren Mitteilung angegeben, daß der Pilz auf Sägemehl Sklerotien bilde. Ich hatte solche in einer für rein gehaltenen Kultur des Pilzes von Kirschwurzel reichlich geerntet, habe sie aber weder bei ihm noch bei dem Apfelwurzelmaterial später wieder erzielen können und muß daher annehmen, daß jene Kultur trotz aufgewandter Sorgfalt verunreinigt war. Aus den Sklerotien habe ich übrigens leider keine Fruchtform erzielen können. Sie überkleideten sich, feucht gelegt, wieder mit dem Fusarium-Flaum und faulten darunter. Wenn sie also als nicht zu unserem Pilze gehörig erachtet werden müssen, so hat sich bei ihm ein anderer Entwickelungszustand durch die Tropfenkultur als absolut sicher dazu gehörig ergeben.

Sind nämlich die Kulturtropfen erschöpft, so bildet unser Fusarium (von Kirschen und Aepfeln völlig gleich) an den Mycelien Chlamydosporen, die meist zu 2—4 nebeneinander entstehen (cf. Fig. 3).

Sie bilden sich sowohl interkalar an allen Hyphen, auch den Conidienträgern, wie endständig an kurzen Seitenästen, ja selbst die Endzelle gekeimter Conidien sah ich in eine Chlamydospore umgewandelt. In ihrer Bildung geht das Mycel völlig auf und eine Kultur des Pilzes auf Sägemehl, in der sie reichlich entstanden, sah schließlich aus, wie mit Sporen eines Brandpilzes dicht bestäubt. Denn diese Chlamydosporen haben eine schwarzbraune Wand, die bei untergetaucht entstandenen glatt, bei Herkunft von Sägemehl fein stachelig war; sie sind kugelig mit 12—13 μ Durchmesser und mit vielen großen Oeltropfen erfüllt. In Nährlösung keimten sie leicht und ergaben wieder die Conidienform.

Erinnerte die Conidienform an eine Nectria, so erinnert diese Chlamydosporenbildung an die Resultate, welche Brefeld (l. c. p. 181) mit Arten der Gattung Hypomyces erhielt. Indes ist bemerkenswert, daß auch Brefeld bei einer Nectria (cucurbitula [Tode]) Chlamydosporenbildung, freilich in anderer Form, beobachtete. Ich halte es daher für wahrscheinlich, daß unser Wurzelpilz die Conidienform einer Nectria ist, und daß in ihm ein neuer Beweis für die Verwandtschaft dieser Gattung mit der Gattung Hypomyces vorliegt, die schon Brefeld betont hat.

Auf den aus Schlesien eingesandten Apfelbäumchen war neben diesem Fusarium anfangs kein anderer Pilz zu finden und auch später trat keine allgemein verbreitete Art hervor. Auf den im Jahre vorher untersuchten Kirschwurzeln war dagegen neben ihm ein Pilz vorhanden, der in die Gattung Septocylindrium gehört und den ich Septocylindrium radicicolum n. spec. nennen will. Auf den Schleswiger Apfelbäumchen fand sich dieser Pilz sogar häufiger als das Fusarium, welches hier erst nach Feuchtlegen der Wurzeln herauskam. Da diese erst im Oktober in meine Hände gekommenen Wurzeln offenbar schon lange vorher abgestorben waren, wird es nicht wunder nehmen, wenn daneben auch eine ganze Zahl anderer Pilze (Cladosporium, Mucor spec., Penicillium etc.), insbesondere bei feuchter Lagerung der Wurzeln, beobachtet wurden.

Die Diagnose für das Septocylindrium lautet:

Septocylindrium radicicolum n. spec.: Caespitulis albis, vix firme congestis, vix lanosis; hyphis juventutine albis, deinde griseis vel brunneis; conidiis hyalinis cylindricis, obtusis vel rotundatis praecipue triseptatis, sed praesertim pluriseptatis, minime constrictis, catenulatis in fine hypharum; 25—30 μ longis, 4—5 μ latis (cf. Fig. 4).

Hab. in radicibus emortuis Pruni avium et Piri Mali plantularum Germania (Silesia et Holsatia).

Auch dieser Pilz ist sowohl im Tropfen wie auf Gelatine und Sägemehl kultiviert worden. Es bildete sich auf diesen Substraten ein wolliges, anfangs schneeweißes, später in den älteren Teilen grau oder bräunlich aussehendes Mycel, das aber keine anderen Fruktifikationen brachte als Conidien. Diese entstanden oïdienartig an den Enden der Hyphen und die Sporen der künstlichen Kultur waren oft länger und mehrzelliger als die des natürlichen Standortes, auf den sich die Diagnose bezieht.

Da kein anderer Pilz als dieses Septocylindrium und das

Fusarium auf den abgestorbenen Wurzeln allgemein verbreitet war und die Krankheit doch parasitärer Natur zu sein schien, so schien es sicher, daß einer von beiden der Uebelthäter sein müsse. Der Umstand, daß auf den schlesischen Apfelbäumchen das Septocylindrium fehlte, wälzte den größten Verdacht auf das Fusarium, doch habe ich mit beiden Pilzen Impfungen versucht.

Mit Septocylindrium radicicolum wurden am 20. Oktober junge, aus der Erde gehobene und in feuchter Kammer gehaltene Wurzeln junger Apfelbäumchen teils verletzt, teils unverletzt an 20 Impfstellen geimpft. Die Impfung blieb ohne jeden Erfolg. Es bildeten sich an den Impfstellen kleine, weiße Fläume, aber keine einzige davon zeigte selbst nach Wochen Absterbeerscheinungen. Somit glaube ich diesen Pilz als zufälligen Begleiter der Krankheit ansprechen zu sollen.

Ganz gleiche Versuche wurden mit dem Fusarium bereits am 22. August hergerichtet. Schon am 24. waren über den Impfstellen zarte Mycelfläume, die sich aber nicht weiter über die Wurzeln ausbreiteten. Das Wurzelwerk war auch am 11. September und weiterhin im allgemeinen gesund, an den Stammstümpfen trieben Augen aus. Pilzwachstum fehlte bis auf die Vegetationen an den Impfstellen ganz. An dem unverletzt geimpften Bäumchen waren die Impfstellen alle völlig gesund, an dem verletzten die Mehrzahl gleichfalls; nur dort, wo die Impfung an der Schnittfläche eingekürzter stricknadel- bis federkieldicker Wurzeln stattgefunden hatte, waren diese Wurzeln 1—2 cm weit völlig abgestorben, braun und eingesunken. Aber derartige Absterbeerscheinungen fanden sich auch an den Wurzeln des nicht geimpften Kontrollbäumchens hier und da, so daß der Impferfolg als negativ bezeichnet werden mußte.

Nicht viel besser sind die Resultate, welche mit Infektion von Topfbäumchen erzielt wurden. Es wurden 1) 2 Kirschbäumchen und 1 Apfelbäumchen derart geimpft, daß sie nach Bloßlegung des Wurzelsystems mit sporenhaltigem Wasser begossen und wieder eingetopft wurden; 2) 1 Apfelbäumchen so, daß nur die obersten Wurzeln freigelegt und auf sie sporenhaltiges Regenwasser gebracht wurde, und 3) 1 Apfelbäumchen so, daß einige größere Wurzeln bloßgelegt und diese nach Verletzung mit der Nadel geimpft wurden. Die Impfungen der Kirschbäumchen waren schon im Juni, die der Apfelbäumchen Ende August vorgenommen worden. Alle Bäumchen vegetierten den ganzen Sommer ohne Schaden weiter und die Apfelbäumchen haben heute (am 1. April) im Zimmer bereits wieder normal getrieben. Der erwünschte Erfolg, daß die Bäumchen zu Grunde gingen, ist also nicht eingetreten. Die im März vorgenommene Untersuchung fand vielmehr das Wurzelsystem der Bäumchen im allgemeinen ganz gesund. Nur an dem verletzt geimpften Bäumchen fand man eine stricknadeldicke Wurzel ganz und eine andere am Impfstiche derart abgestorben, daß um den Impfstich herum eine etwa 6 qmm große Cambiumpartie abgestorben war in der Art, wie es dem natürlichen Krankheitsverlaufe entsprechen würde. Aus diesen kranken Wurzeln wuchs bei Lagerung in feuchter Kammer überall wieder das Fusarium hervor.

Ob die Resultate an diesen Bäumchen noch deutlicher werden,

kann erst die Zukunft zeigen. Aber trotzdem der Erfolg bisher so minimal, zumeist sogar negativ ist, möchte ich doch das Fusarium für einen Parasiten halten, da nämlich Zweigimpfungen viel bessere Resultate ergeben haben. Es ist oben erwähnt worden, daß die Conidien und die Conidienbildung unseres Pilzes sehr an Nectria coccinea (Pers.) Fr., die, nebenbei bemerkt, von Kirschbäumen bekannt ist, erinnert. Es stimmen aber die Beobachtungen, wenn man von den Chlamydosporen absieht, auch nicht schlecht zu Nectria ditissima (Tul.), die man als Parasiten auf Apfel und Kirsche kennt. Trotz der Abweichungen, die meine Kulturen gegenüber denen, die Brefeld mit Nectria ditissima (Tul.) durchführte, zeigten, wollte es mir gar nicht unmöglich scheinen, daß mein Fusarium die Conidienform dieses Parasiten sei. Ich impfte daher die Apfelbäumchen, die zu den Wurzelimpfungen dienten und die den Sorten Fraas Sommercalvill und Weiss. Wintercalvill angehören, gleichzeitig an 7 genau bezeichneten Stellen in die Rinde, indem ich teils nur Nadelstiche, teils kleine Einschnitte mit einer lanzettförmigen Nadel ausführte. Von diesen 7 Wunden zeigen nun 5 kleine 2—4 mm breite Absterbungszonen um die Verletzung herum und nur 2 sind gutartig. Besonders bei den Nadelstichen läßt sich diese Folgeerscheinung der Impfung nicht anders erklären, als daß hier wirkliche Infektion stattgefunden hat. Ob die Wunden freilich zu Krebs führen, wird auch hier erst die Zukunft lehren können. Einstweilen glaube ich daraus nur folgern zu können, daß unser Fusarium wirklich ein Parasit ist, der vielleicht langsam, aber doch schließlich vernichtend wirkt.

Ueber Botrytis longibrachiata Oud. auf Farnen.

Dieser erst seit wenigen Jahren bekannte, von seinem Entdecker Oudemanns[1]) auf Curcuma rubricaulis beobachtete Pilz wurde vom Berichterstatter auf verschiedenen Farnen des botanischen Gartens zu Jena parasitierend angetroffen. Schon Rosen[2]) hat ihn im botanischen Garten zu Breslau verheerend auf Farnen auftreten sehen, und es ist zweifellos, daß er ein lästiger Schädling werden kann. Allein trotzdem gelang es mir nicht, abgetrennte gesunde oder teilweise abgetötete, in feuchter Kammer liegende Wedel hiesiger Farne erfolgreich damit zu infizieren. Es gehören also offenbar besondere Bedingungen dazu, um ihn zum Parasiten zu machen.

Interessant und in ihrer Bedeutung für die Sporenausstreuung bisher nicht bekannt ist der Bau des Conidienträgers. Die Conidienträger bilden schneeweiße, bis $^1/_2$ cm hohe, rispige Stände, deren einzelner Ast am Ende zu einer ellipsoiden oder eiförmigen Blase anschwillt. An dieser Blase entstehen, wie schon Oudemanns sah, 3—5 keulenförmigen Auswüchse (cf. Fig. 5*a*), die Basidien, deren eine auf dem Scheitel der Anschwellung steht, während die anderen sich am Aequator oft sehr regelmäßig verteilen. Diese Auswüchse tragen auf kurzem Stiel einen knolligen, mit wulstigen Höckern ver-

1) Micromycètes nouveaux. (Overgedr. uit de Verslagen en Mededeelingen der koninklijke Acad. d. Wetensch. Afdeel. Naturk. 3. R. Deel VII. p. 7(318)—10.)

2) Ueber zwei weniger bekannte parasitäre Pilze unserer Gewächshäuser. (Sitzg. d. zool. bot. Sekt. d. Schles. Ges. f. vaterl. Kult. v. 29. Okt. 1896.)

sehenen Teil. Aus letzterem sprossen die Conidien als anfangs kleine Bläschen hervor. Die große Masse der an jeder Basidie entstehenden Sporen hüllt das ganze Trägerende so vollständig ein, daß dessen Bau nicht mehr erkennbar ist (cf. Fig. 5*b*).

Legt man solch einen Sporenstand nun in einen Wassertropfen, so fallen alle Sporen ab und es bleibt nur der nackte Träger mit seiner ellipsoiden Anschwellung übrig, die obendrein geplatzt erscheint (Fig. 5*c*). Von den einst auf ihm sitzenden Basidien ist nichts mehr zu sehen. Dieses Verhalten fiel auch schon Oudemanns auf; er giebt aber keine Erklärung dafür. Das vollständige Verschwinden der Basidien kommt daher, daß sie bei Berührung mit Wasser platzen und verquellen und dadurch offenbar zur Verstäubung der Sporen beitragen. Man kann dieses Verhalten gut beobachten, wenn man zu einem in der Luft liegenden Conidienträger einen Wassertropfen zutreten läßt. Es fällt dann in dem Augenblicke, wo das Wasser herankommt, der Sporenknäuel explosionsartig auseinander. Schon feuchte Luft scheint ausreichend zu sein, um diesen Zerfall herbeizuführen, denn wenn sich beim Einlaufen des Wassers zwischen den Conidienträgermassen, wie das meist geschieht, zunächst eine Luftblase bildet, so findet auch in dieser das Auseinanderspritzen der Sporenklumpen statt, sobald Tautröpfchen in der Blase erscheinen.

Es ist also nicht zweifelhaft, daß diese eigenartigen Basidien Einrichtungen für die Sporenverstäubung sind. Unbekannt ist es mir, ob bei anderen Botrytis-Arten der Sektion Phymatotrichum etwa Aehnliches bekannt ist.

„Propolisin“, ein neues „Pilzbekämpfungsmittel“.

Unter dem Namen Propolisin wurde uns eine von der chemischen Fabrik von Spiegler in Großhennersdorf hergestellte, ölige, in Wasser unlösliche Flüssigkeit zur Begutachtung eingesandt, welche neben einer Wirkung gegenüber Influenza, Keuchhusten, Diphtherie und anderen höchst heterogenen Dingen auch ein Mittel gegen Fusicladium und andere Pilzkrankheiten sein sollte. Obschon die ganze Anpreisung einen ganz und gar nicht Vertrauen erweckenden Eindruck machte, wurde der Stoff doch einer kurzen Prüfung auf seine fungicide Wirkung hin unterzogen, weil nach Bokorny's Untersuchungen[1]) ätherische Oele im weitesten Sinne des Wortes eine fungicide Wirkung haben sollen und das Propolisin angeblich ein durch trockene Destillation (woraus?) wahrscheinlich aus Pflanzen gewonnener Stoff war, der augenscheinlich solche ätherische Oele enthielt.

Es sollte zu Zwecken des Pflanzenschutzes nach Angaben der Fabrik in einer 1-proz. Seifenlösung 1 $^0/_{00}$ Propolisin gelöst werden. Mit dieser Lösung bespritzte, im Zimmer getriebene Apfel- und Birnbäumchen sowie Chrysanthemum indicum wurden durch dieselbe nicht beschädigt. Den Pilzen gegenüber erwies sich dieselbe aber fast ebenso unschädlich und kaum schädlicher als eine propolisinfreie Seifenlösung. Eine solche ergab in 1 : 1 Verdünnung mit

1) Ueber die Wirkung der ätherischen Oele auf Pilze. (Pflüger's Arch. f. d. ges. Phys. Bd. LXXIII. p. 555—594.)

Wasser nach Einsaat verschiedener Schimmelpilzsporen innerhalb von 4 Tagen ebensowenig Pilzwachstum wie eine gleicherweise verdünnte Seifenpropolisinlösung und in Verdünnungen von 1 : 10 traten in beiden Flüssigkeiten sowohl Hefen wie Bakterien und sehr ansehnliche Pilzmycelien auf. Wir schließen daraus, daß das Propolisin keine praktisch verwertbare fungicide Wirkung hat und warnen vor seinem Ankaufe.

Hengstenberg's Konservenglas Königin.
(Deutsches Reichspatent No. 103 500.)

Bei Benutzung dieses Glases, das jetzt vielfach angepriesen wird, dem wir im letzten Jahre wiederholt auf Ausstellungen begegneten und das in Berlin 1899 auch preisgekrönt wurde, sollen die in einem gewöhnlichen Kochgeschirr gekochten Konserven heiß in die Gläser gefüllt werden und dann der durch einen Gummiring gedichtete Deckel auf daß Gefäß dadurch luftdicht aufgepreßt werden, daß mittels einer beigegebenen Luftpumpe und durch ein Ventil im Deckel hindurch ein luftverdünnter Raum über den Konserven hergestellt wird. Es bedarf gar keiner Versuche, um das Unvollkommene und Unzweckmäßige eines solchen Verfahrens zu erkennen. Da aber das Glas „als sehr bedeutende Vorteile gewährend" angepriesen wird und im Publikum zuweilen sogar der Glaube erweckt wird, daß gar nicht im Kochen, sondern im Luftauspumpen die Konservierung herbeigeführt werde und daß man ganz ohne Kochen durch einfaches Auspumpen der Luft konservieren könne, mag angeführt werden, daß unter 3 hier probierten Gläsern nur eines und auch dieses nur ca. 14 Tage lang wirklich luftdicht schloß und selbst bei mehrmals wiederholten Versuchen keines dauernd geschlossen blieb.

Eine kleine technische Mitteilung

mag im Anschluß hieran Erwähnung finden. Ich bediene mich seit mehr als $1^1/_2$ Jahren im Laboratorium bei bakteriologischen und mykologischen Arbeiten mit großem Vorteile der sogenannten „Wolffschen Konservenbüchsen mit dem Wolfe", indem ich dieselben teils zur Aufbewahrung von sterilisierten Nährböden, teils direkt zu Kulturen benutze. Es sind diese Gläser in verschiedenen Größen von Wolff-Habelschwerdt in den Handel gebracht. Ich finde für das Laboratorium besonders die $^1/_4$ l- und die 1 l-Gefäße praktisch. Beide Konservengefäße sind cylindrisch mit plattgeschliffenem Rande, auf den ein Glasdeckel, infolge der Sterilisation luftdicht aufgepreßt, durch Gummiring gedichtet wird. Zur bequemeren Handhabung vor der Sterilisation ist ein Metallbügel beigegeben, durch den die Deckel festgehalten werden, bis der Luftdruck wirkt. Für die Konservenfabrikation werden die Gummiringe mit einer Harzlösung überzogen geliefert und sind dann nur einmal verwendbar. Auf Wunsch erhält man aber auch harzfreie Ringe, die für das Laboratorium praktischer sind und öfter verwandt werden können. Das kleinere der von mir benutzten Gefäße ist nur etwa 5 cm hoch und dient mir für Kulturen auf Gelatine, welche ich in dasselbe direkt eingieße und darin sterilisiere. Nach der Impfung wird der Deckel durch den Metallbügel wieder fest aufgepreßt. Solche Kulturen sind später

sehr leicht und bequem zu untersuchen und verunreinigen nicht öfter wie die in Kolben mit Watteverschluß. Das größere ist ca. 19 cm hoch und wird mit Vorteil für Aufbewahrung der mit Nährlösungen oder Nährgelatine beschickten Reagenzgläser gebraucht. Ich sterilisiere diese zu je 6 direkt in dem Konservenglase und erreiche dadurch, daß bis zum Verbrauche nie eines verunreinigt und der Nährboden auch nicht merkbar vertrocknet, selbst bei mehr als halbjähriger Aufbewahrung. Ich finde dieses Verfahren viel einfacher und praktischer als die bisweilen verwandten Gummihütchen.

Auskunftserteilung.

Aus der Auskunftserteilung mögen nur einige Pflanzenkrankheitsfälle hier Erwähnung finden, die nicht alltäglich, teilweise sogar neu sind:

1) Eine dem „fireblight" Amerikas äußerlich ähnliche Krankheit des Apfelbaumes[1]) wurde Juli 1899 aus Ostpreußen eingesandt. Es sterben bei ihr, ähnlich wie bei der durch Monilia fructigena hervorgerufenen Erscheinung, zuerst die Blüten und Blütentriebe, sodann aber ganze Zweigsysteme der Bäume im Frühjahre ab. Monilia konnte aber in dem uns eingesandten Materale nicht gefunden werden. Auch paßt zu diesem Pilze nicht, „daß, wie der Einsender sagte, hauptsächlich die kurzen Blütentriebe am Ansatze des alten Holzes faulige Stellen zeigen". Wir fanden an den bleistiftdicken Zweigen überall, nicht bloß am Grunde der Fruchttriebe, blasig aufgetriebene und aufplatzende Rindenpartieen (cf. Fig. 6), die wahrscheinlich jenen „fauligen" Stellen des Einsenders identisch waren und die uns an den fireblight Amerikas erinnerten. Es fand sich in ihnen ein steriles, weißes Pilzmycel ausnahmslos überall und könnte deshalb Urheber der Erscheinung sein. Ob auch Bakterien darin stete Begleiter waren, wie es bei fireblight der Fall sein müßte, ließ sich an dem völlig vertrocknet in unsere Hände gekommenen Materiale nicht entscheiden. Das Pilzmycel konnte dagegen in Tropfenkultur zur Fruktifikation gebracht werden, nach welcher der Pilz vielleicht eine Mollisiacee oder Helotiacee ist — Gruppen, aus denen man mehrere Arten auf Pirus malus vorkommend kennt, und unter denen unser Pilz durch sein Vorkommen besonders an Mollisia mali Phill. et Plowr. erinnert[2]). Die Conidienbildung unseres Pilzes war, von der Form der Sporen abgesehen, ähnlich derjenigen, wie sie Brefeld als zu Mollisia cinerea gehörig erzog. An schlanken Hyphen bildeten sich gruppenweis ganz kurze Conidienträger (cf. Fig. 7 *b*), welche in der Gruppe so dicht gedrängt standen (Fig. 7 *a*), daß der fruktifizierende Teil stromaartig, völlig undurchsichtig und unentwirrbar wurde. Der einzelne herausgerissene Träger war sparsam, quastenartig verzweigt und bildete wie ein Penicillium reihenweis kugelige, farblose Sporen von 2—3 μ Durchmesser. Die Unterbringung der Conidienform im System der

---

1) cf. Aderhold, Zwei gefährliche Erkrankungsfälle unseres Kernobstes. (Prosk. Obstbau-Ztg. 1900. p. 39—42.)

2) cf. Rehm, Ascomyceten. p. 658: „An der Innenseite abstehender, noch hängender Rinde von Apfelbäumen".

Hyphomyceten ist nicht möglich, so lange sie nur in künstlicher Kultur vorliegt.

Da diese Krankheit von der biologischen Abteilung des Reichsgesundheitsamtes studiert wird, habe ich weitere Untersuchungen darüber unterlassen. Von einer ihr äußerlich gleichen Erscheinung wurde uns aus Südschweden berichtet, die wir ihr nicht bloß des Krankheitsbildes halber, sondern namentlich deshalb gleich erachten, weil die gleiche Apfelsorte (weißer Astrakan) als besonders hinfällig bezeichnet wurde[1]).

2) Auf Apfelblättern sind sowohl eingesandt wie hier beobachtet worden (NB. an nicht gespritzten Bäumen) große, braune Blattflecken, die einen vorzeitigen Blattfall veranlaßten. Sie waren bis in den Spätsommer ohne Pilzfruktifikationen; dann trat ein förmliches Ragout von Pilzen auf (Cladosporium spec., Phoma spec., Hendersonia spec.), so daß ohne eingehende Untersuchung der wahre Schuldige sich nicht feststellen ließ. Die Erscheinung ist wahrscheinlich identisch derjenigen, welche Prillieux 1888 in verschiedenen Teilen Frankreichs beobachtet hat[2]), und scheint im vorigen Jahre auch Weiß vorgelegen zu haben[3]).

3) Cytospora rubescens Aut. wurde auf Birntrieben als wahrscheinliche Ursache deren Absterbens gemeldet. Offenbar sind unter diesem Namen mehrere Pilze vereint, die in der Litteratur teilweise auch schon, aber ohne stichhaltigen Grund, getrennt werden. Eine vom Birnenpilz nicht unterscheidbare Form wurde hier in den letzten Jahren wiederholt an abgestorbenen Pfirsichtrieben beobachtet. Diese zu der Gattung Valsa gehörigen Conidienformen wären einer genaueren Untersuchung sowohl hinsichtlich ihrer Morphologie und Entwickelungsgeschichte, wie auch hinsichtlich ihres Parasitismus sehr bedürftig.

4) Eigentümliche Knollen und Wunden an Pflaumentrieben erinnerten zuerst an den Black knot Amerikas. Plowrightia morbosa konnte daran aber nicht gefunden werden und die Erkrankung erschien viel eher nicht parasitärer Natur.

5) Eine Wolllaus auf Ahorn, die bisher unbekannt zu sein scheint, verdient wegen ihrer auch für Wollläuse außergewöhnlich großen Aehnlichkeit mit der Blutlaus der Erwähnung. Leider war das eingesandte Material sehr gering und weiteres nicht zu erhalten, so daß eine ausführliche Studie unmöglich war. Die zerdrückte Laus

---

1) Das Manuskript dieser Arbeit samt der zugehörigen Tafel lag bereits fertig vor, als uns durch Kreisobergärtner Kotelmann aus Ostpreußen neuerdings (12. Mai 1900) Triebe der kranken Bäume eingesandt wurden. Wir fanden auf dem voriges Jahr abgestorbenen Fruchtholze derselben zu dieser Zeit reichlich Polsterchen von Monilia cinerea Bon., so daß kein Zweifel ist, daß dieser Pilz, der, wie bekannt, von vielen Phytopathologen nicht von Monilia fructigena Pers. getrennt wird, der Urheber der Krankheit ist. Das oben erwähnte Mollisiaceenmycel fehlte in dem diesjährigen Materiale und das letztere trug aufgesprungene Rindenpartieen nur am Grunde der Kurztriebe oder von diesen ausgehend, während ich solche voriges Jahr auch an Langtrieben, fern von Kurztrieben, sah. Sie dürften aber trotzdem sekundär gewesen sein. Der diesjährige Befund läßt keinen Zweifel darüber, daß Monilia die Krankheit verschuldet hat.

2) cf. Maladies des feuilles des Pommiers et Chataigniers en 1888. (Société mycol. de France. T. IV. p. 143. Ref. im Journ. of mycology. 1889. p. 106.)

3) II. Jahresber. d. Versuchsstat. Wädensweil. 1893. p. 58.

ergab einen ähnlichen, etwas dunkleren, roten Saftfleck wie die Blutlaus, trug Wolle wie diese, war aber etwas größer (bis 3 mm gemessen) und anders gefärbt: Kopf und Vorderbrust zart fleischfarben, Hinterleib pflaumenblau. Wie bei der Blutlaus war das dritte von den 6 Fühlergliedern das längste; die drei letzten zusammen waren aber bei der Ahornlaus $1^1/_2$mal länger als bei der Blutlaus. Auch die gesamte Fühlerlänge war mit $1^5/_{28}$ mm Länge bei jener erheblich größer als bei dieser. Die Laus wurde in einer krebsigen Wunde eines Ahornbäumchens bei Neiße gefunden.

6) Von Pinus strobus wurde zweimal völliges Absterben ganzer Bäume gemeldet. Dasselbe ging von den Wurzeln aus, an denen sich ein Pilzmycel fand, welches der von Scholz[1]) als Zerstörer der Pinus angesprochenen Rhizoctonia strobi Scholz identisch war.

7) Eine Veilchenkrankheit, die aus einer schlesischen Treiberei eingesandt wurde, und bei der die Blütenknospen verkrüppelten und eigentümliche knäuelartige Knospenanhäufungen entstanden, war durch eine nicht genauer studierte Anguillulide hervorgerufen.

8) Clasterosporium Hydrangeae (Thüm.) Sacc. beschädigte Hydrangea hortensis in einer Gärtnerei der Provinz Brandenburg empfindlich.

9) Stemphylium ericoctonum A. Br. und de By wurde auf Erica-Arten aus einer Gärtnerei bei Potsdam eingesandt.

Endlich mögen im Anschluß noch einige in früheren Jahren eingesandte, bisher nicht veröffentlichte Krankheiten Erwähnung finden.

10) Eine Krankheit von Acer platanoides. In einer Baumschule in der Nähe von Breslau starben Mitte in den Quartieren im Sommer 1898 und angeblich auch schon in früheren Jahren einzelne Bäumchen von Acer platanoides plötzlich ab. Sie trugen, soweit sie zur Untersuchung kamen, alle am Wurzelhalse eine den ganzen Stamm umfassende tote Partie, welche rückwärts bis auf die älteren Wurzelteile, aufwärts bis fußhoch über den Boden sich fortsetzte und welche ganz den Eindruck einer pilzlichen Infektion machte. Mycelien fanden sich darin überall, aber nur an einigen Bäumchen fand ich auch Fruchtkörper, die einer Cytospora angehörten, welche bisher nicht beschrieben zu sein scheint und deshalb Cytospora acerina n. spec. benannt sein möge. Sie charakterisiert sich, wie folgt:

Pykniden rundlich, mit ca. $^1/_2$ mm Durchmesser, weiß, nur die äußersten Wandschichten bräunlich, einzeln, ohne deutliches Stroma oder zu mehreren auf strichförmigem bis rundlichem, schwach ausgebildeten Stroma von gleicher Farbe, unter der ältesten Rinde sitzend, hervorbrechend ein- bis mehrfächerig mit einem gemeinsamen Porus. Sporen in grauweißen, $1-1^1/_2$ mm langen Schleimranken hervorbrechend, farblos, cylindrisch oder stäbchenförmig mit gerundeten Enden, gerade, vielfach mit je einem stark lichtbrechenden Tropfen an jedem Ende, $8-10\ \mu : 2-3\ \mu$ groß; auf kurzen, spitzen Basidien gebildet (cf. Fig. 8).

---

1) Verhandl. d. zool. bot. Ges. Wien 1897. No. 8.

Der Pilz erinnert an Cytospora flavo-virens Sacc.[1], der auf Acer campestre vorkommt, weicht aber durch die Stromafarbe und die geraden Sporen von jenem ab.

Ob er der Urheber jener Ahornkrankheit war, ist experimentell nicht geprüft worden, ist aber sehr wahrscheinlich.

11) Zwei Maiblumenkrankheiten:

A. Eine Blattfleckenkrankheit durch Septoria majalis n. spec. verursacht. Aus Neusalz i. Schles. wurde mir im Juli 1896 eine Krankheit der Maiblumen eingesandt, bei welcher die Blätter (cf. Fig. 9) zahlreiche große, ineinanderfließende, braune Flecke bekamen, welche nicht scharf begrenzt, sondern gegen das gesunde Gewebe schwarzrotbraun abschattiert waren. Sie standen oft so dicht, daß das ganze Blatt unter ihrer Wirkung vergilbte. Die Krankheit that hierdurch in der heimgesuchten Gärtnerei fühlbaren Schaden. Auf den braunen Flecken fanden sich überall massenhaft Pykniden einer Septoria (cf. Fig. 10), die mit keiner der bisher bekannten Arten übereinstimmt, allenfalls aber der nur dem Namen nach bekannten Septoria convallariae West. (Saccardo. Vol. III. p. 573) identisch sein könnte. Ich will sie Septoria majalis nennen.

Septoria majalis n. spec.: Peritheciis subglobosis-depressis, gregariis, epidermide contextis, erumpentibus, ostiolo rotundo, 100—120 : 140—180 μ diam.; sporulis cylindris, baccilaribus, rectis vel rarius minime curvatis, uni-vel biseptatis, non constrictis, hyalinis, 16—25 : 4—8 μ.

Hab. in foliis vivis Convallariae majalis in maculis brunneolis, rubro marginatis. Germania (Silesia).

Daß sie die Ursache der Flecken und des Absterbens der Blätter ist, kann, obschon Impfversuche nicht gemacht wurden, nicht zweifelhaft sein.

B. Eine Nematodenkrankheit: Demselben Maiblumenzüchter, welcher die vorher geschilderte Krankheit einsandte, fielen an den Maiblumenwurzeln kupfer- oder karminrot gefärbte Stellen auf, welche an eingesandten Wurzeln reichlich vorhanden waren (cf. Fig. 11), dünnere Wurzeln ganz umfaßten und oft centimeterlang bedeckten. Nach Angabe dieses Züchters fanden sich derartige krankhafte Stellen, deren mittlere Teile abgestorben und geschwärzt waren, an Maiblumenwurzeln der verschiedensten Herkunft, schienen aber die Pflanzen nicht weiter zu schädigen.

Die Untersuchung ergab, daß sie von Nematoden der Gattung Aphelenchus hervorgerufen waren, von denen (im November) Männchen, Weibchen und alle Entwickelungsstadien in den kranken Teilen gefunden wurden. Das erwachsene Männchen maß bis zu $1^1/_2$ mm in der Länge und $^1/_{25}$—$^1/_{20}$ mm in der Dicke. Die Würmer hatten sich im Grundgewebe des Wurzelkörpers angesiedelt und hier Spalten und Klüfte geschaffen, während in dem umliegenden Gewebe ein intensiv roter Farbstoff auftrat, der die Erscheinung auffällig machte. Die Stele des Wurzelkörpers war dagegen völlig intakt geblieben, und das war wohl der Grund dafür, daß man auch

1) Besonders nach Nitzsche's Charakterisierung. (Pyrenomyc. germ. p. 140.)

solchen Pflanzen keine Not ansah, die an vielen Wurzeln solche rote Stellen trugen.

12) Eine, wie es scheint, neue Krankheit von Narcissus poeticus wurde der Versuchsstation aus Neusalz a. O. eingesandt. Sie zerstört die Blätter der Pflanzen, welche, ohne daß scharf begrenzte Flecken aufgetreten wären, zu vergilben beginnen und schließlich braun und trocken werden. Das Absterben begann zumeist von den Spitzen her und schritt gegen die Basis der Blätter fort, die schließlich völlig zu Grunde gingen, so daß die Narcissenkulturen sehr geschädigt wurden.

Auf den vergilbenden Blattstellen saßen überall Pykniden einer Phyllosticta-Art, die bisher nicht beschrieben zu sein scheint und daher Phyllosticta[1]) Narcissi Aderh. benannt werden mag:

Fruchtkörper flach, unter der Epidermis sitzend, hervorbrechend kugelig bis ellipsoid, im letzteren Falle Längsachse parallel der Längsachse des Blattes. Größe sehr variabel, 100—225 μ gemessen; mit deutlichem rundlichen Porus, der braun umrandet ist, während die Pyknidenwand zart, blaß, bräunlich-gelb, nur leicht gefärbt erscheint. Sporen (cf. Fig. 12) ellipsoid bis dick stäbchenförmig, farblos, hyalin, einzellig, bisweilen mit 1 oder selbst 2 Oeltropfen, in Ranken austretend, 5—8 : 3—$4^1/_2$ μ. Sporenträger fehlend; sporogene Hyphen kugelig oder knorrig angeschwollen, die Sporen durch Sprossung an ihren Seiten erzeugend.

Daß dieser Pilz der Urheber der Krankheit ist, war leicht zu erweisen. Am 27. Mai in einen Topf gepflanzte und mit den Phyllosticta-Sporen geimpfte Narcissen starben rapide ab und trugen bereits am 6. Juli wieder Tausende von Pykniden.

In Gesellschaft des Pilzes fanden sich auf dem Neusalzer Material vereinzelt Klumpen von Sporen eines anderen Pilzes, deren Herkunft aber leider wegen des spärlichen Vorkommens nicht festgestellt werden konnte. Sie waren farblos, ellipsoid bis walzlich, 1—4-zellig, im letzteren Falle an den Querwänden ganz leicht eingeschnürt, 20—24 : 6—8 μ groß. Ich vermute, daß dieser Pilz identisch ist mit Stagonospora Curtisii (Berk.) Sacc., dessen Diagnose bei Saccardo Syll. Bd. III. p. 451 lautet:

„Stagonospora Curtisii (Berk.) Sacc. Hendersonia Curtisii Berk. in herb. Curt.-Cooke, Praecursor Monogr. Henders. p. 19. — Peritheciis . . . . .; Sporulis elongato-ellipsoideis, demum biseptatis, 17—21 $\asymp$ 7,5."

Diese Species ist demnach sehr unvollkommen bekannt und es scheint mir sogar noch zweifelhaft, ob es sich in ihr thatsächlich um eine Pyknidenform handelt. Die von mir beobachteten Sporen hatten, wie mir schien, die Tendenz, ihre einzelnen Zellen so gegeneinander abzurunden, daß diese sich schließlich wie Chlamydosporen voneinander trennten, was mir zu einer Pyknidenform wenig passen will.

Ob dieser Pilz zu der Phyllosticta Narcissi in einer genetischen Beziehung steht, vermag ich nicht zu sagen. Die Massen

1) Ich schließe mich dabei Allescher in der Abgrenzung dieser Gattung von der Gattung Phoma an.


1.
a
b
c
2.
a
b
3.
4.
5.
a
c
b
7.
a
b
b
8.
6.
12.
11.
9.
10.

kräftiger Hyphen in den kranken Narcissenblättern machten nicht den Eindruck, als ob hier mehrere Pilze untereinander wüchsen, aber auf den mit Erfolg infizierten Narcissen trat die Stagonospora nicht wieder auf.

Proskau, Mai 1900.

Figurenerklärung der Tafel.

Fig. 1. Fusarium rhizogenum Pound. et Clem. (?). Verschiedene Conidienformen des Pilzes von Apfelwurzeln. 480 : 1.

Fig. 2. Luftconidienträger desselben Pilzes in künstlicher Kultur. Bei *a* ist das Sporenköpfchen in einen Tautropfen eingeschlossen. 200 : 1.

Fig. 3. Chlamydosporen desselben Pilzes. 480 : 1.

Fig. 4. Conidien von Septocylindrium radicicolum n, spec. 480 : 1.

Fig. 5. Botrytis longibrachiata Oud. *a* zwei junge Conidienträger vor der Bildung der Sporen, *b* Conidienträger mit Sporen, *c* geplatzte Träger nach Ausschleuderung der Sporen. 480 : 1.

Fig. 6. Kranker Apfeltrieb mit 2 aufgeplatzten, einer noch geschlossenen kranken Stelle. Nat. Gr.

Fig. 7 *a*. Habitusbild eines fruktifizierenden Fadens des in den aufgeplatzten Rindenstellen des Apfeltriebes gefundenen Pilzes; *b* Conidienträgergruppen daraus stärker vergrößert. 480 : 1.

Fig. 8. Sporen von Cytospora acerina n. spec. 480 : 1.

Fig. 9. Ein von Septoria majalis n. spec. befallenes Blatt von Convallaria majalis. Nat. Gr.

Fig. 10. Pykniden und Pykniosporen von Septoria majalis n. spec. 150 : 1 und 450 : 1.

Fig. 11. Durch Nematoden beschädigte Maiblumenwurzeln. Nat. Gr.

Fig. 12. Sporen von Phyllosticta Narcissi n. spec.

Kongresse.

Hauptversammlung d. Ver. dtsch. Chemiker zu Hannover, 8. Juni 1900.

Wehmer, C., Chemische Leistungen der Mikroorganismen im Gewerbe.

Die gewerbliche Bedeutung der Mikroorganismen (Bakterien, Hefen, Pilze) ist heute allgemein anerkannt. Man kann die Leistungen zweckmäßig in 3 Hauptgruppen ordnen: 1) Umformung stärke- oder zuckerhaltiger Rohstoffe bezw. stickstofffreier Verbindungen in Zucker, Alkohol oder organische Säuren, 2) Umformung stickstoffhaltiger Verbindungen (Stickstoffumtrieb im Erdboden), 3) Zersetzungsprozesse vegetabilischer oder animalischer Stoffe verschiedenster Art. Dem Chemiker liegt die erste Gruppe am nächsten. Alkohol- und Säurebildung werden im Gärungsgewerbe technisch ausgenutzt; neuerdings scheint dazu auch die Stärkeverzuckerung zu treten, so daß wir von der Stärke bis zum Alkohol und den organischen Säuren durch Mikroorganismenhilfe gelangen. Kurze Uebersicht des Bekannten ergiebt Folgendes.

Die alkoholbildende Wirkung ist die wichtigste Leistung, technisch kommen da so gut wie ausschließlich die Hefepilze in Betracht. Brauerei, Brennerei, Weinbereitung beruhen auf der Arbeit der Hefen, aller technischer Alkohol ist ihr Produkt. Zucker in Alkohol umzuwandeln, vermag bislang nur der Organismus. Ueber

100 Millionen an jährlicher Steuer zieht der Staat aus dieser Hefenarbeit. Der Vorgang selbst ist offenbar kompliziert, der Alkohol ist ein sauerstoffarmes Reduktionsprodukt. Das dabei wirkende Prinzip ist das Plasma der Hefezelle, angeblich soll es neuerdings ein Enzym sein; solange dieses Enzym — wie Invertin, Diastase, Pepsin u. a. — zwecks Nachprüfung im Handel nicht erhältlich, darf das bezweifelt werden. Gärwirkung zeigt nur die richtig ernährte, Enzymwirkung auch die notorisch tote Hefezelle. Hier sind viele ungelöste Fragen. Weshalb wird von der lebenden Hefe nur höchstens bis zur Hälfte des Zuckers in Alkohol umgesetzt? Die Lösung des Problems, Zucker auf rein chemischem Wege in Sprit überzuführen, würde eine eminente Umwälzung im Gewerbe zur Folge haben. Die Hefe ist eine wichtige Kulturpflanze, wir stehen da zur Zeit im Zeichen der Reinkultur und Rassenzüchtung, welche viele Laboratorien beschäftigt. Gärungsphysiologie als besonderes Lehrfach fehlt bislang an den deutschen Hochschulen.

Die säurebildende Wirkung der Mikroorganismen ist von mehr bescheidener Bedeutung. Als Bakterienwirkung kommen da technisch die Erzeugung von Essigsäure, Milchsäure, Buttersäure in Frage, das sind oxydierende und reduzierende Wirkungen. Rohmaterialien für den Gärungsessig sind Wein, Bier, alkoholische Flüssigkeiten; die Bedingungen für die Oxydation des Alkohols durch Organismen sind andere als die durch Platinschwamm; es verdrängt der Holzessig den Spritessig allmählich. Die Zahl der auch andere Oxydationen (Zucker) durchführenden essigbildenden Bakterien wächst, seitdem man ihnen neuerdings mehr Aufmerksamkeit widmet. Rationelle Reinzucht dringt auch hier vor im Dienste des Spiritusgewerbes. Wichtiger ist heute die Milchsäuregärung für die Technik, da die rohe wohlfeile Säure weitere Anwendung findet (Färberei); neuestes Verwendungsgebiet ist die Brennerei, wo Ref. die vorteilhafte Verwendbarkeit der rohen (buttersäurehaltigen) Säure für die Hefenmaischen-Säuerung zeigte und lebhaft befürwortete. Das wäre also eine Verdrängung von Mikroorganismen aus einem Gewerbe. Ueber die technischen Milchsäurebakterien ist noch wenig Genaueres bekannt, so sehr die Zahl der aufgestellten, mehr oder minder sicheren Arten auch wächst. Vielleicht kann man sie demnächst durch rein chemische Verfahren ersetzen. Von der Milchsäure gelangt man durch Bakterienhilfe zur Buttersäure, technisch minder wichtig (Esterfabrikation); über die mannigfachen Buttersäurebakterien sind wir auch heute noch dürftig unterrichtet. Wir haben bei diesen Organismenwirkungen also die Reihen: Zucker-Alkohol-Essigsäure und Zucker-Milchsäure-Buttersäure, successiv auseinander hervorgehend; den Schluß macht das Glied Stärke-Zucker und Zucker-Citronensäure, ebenfalls biochemische Vorgänge, aber Leistungen der sogenannten Schimmelpilze. Die Umbildung von Zuckerarten in Citronensäure ist eine ausgesprochene, an die Essigbildung anschließende Oxydation, kompliziert durch die Konstitution dieser Säure. Die Chemie kann diesen Vorgang einstweilen nicht nachmachen, die komplizierten Umsetzungen im lebenden Plasma geben ihr noch manches Rätsel; mit der Annahme von „Enzymen“ kommen wir nicht weit. Besonders lelbhaft bildet unter richtigen Ernährungsbedingungen ein grüner

Schimmelpilz (Citromyces Pfefferianus) jene Säure; wie alle Gärleistungen ist auch diese variabel, Organismen arbeiten nicht wie Maschinen. Die Darstellung der Gärungs-Citronensäure (Fabriques de Produits Chimiques zu Thann i. E.) wird durch den sinkenden Preis der natürlichen beeinflußt. — Die Gärungs-Oxalsäure hat nur theoretisches Interesse.

Die verzuckernde Wirkung von Mikroorganismen scheint neuerdings auch bei uns Eingang in die Technik zu finden, Japaner und Chinesen arbeiten seit Jahrtausenden damit, indem sie durch bestimmte Schimmelpilze den auf Alkohol zu vergärenden Reis verzuckern lassen. Hier liegt eine notorische Enzymwirkung vor. Die Hydrolyse der Stärke zu Maltose und Dextrose wird durch diastase- und invertinartige extrahierbare Substanzen bewirkt, deren genaueres Studium noch nicht abgeschlossen ist. Auch einige Bakterien und Hefen besitzen solches Verzuckerungsvermögen, bei Fadenpilzen ist es recht verbreitet, man hat sich in Deutschland aber bisher weniger dafür interessiert; es fehlen uns wissenschaftliche, von geschäftlichen Rücksichten und einseitigen Gewerbsinteressen unabhängige gärungsphysiologische Institute. Beide Pilzverzuckerungsverfahren der letzten Jahre kommen vom Auslande (Nordamerika, Frankreich); bei uns hat man die erste Anregung vor 25 Jahren, trotzdem sie gerade von Deutschen im Auslande gegeben wurde (Hoffmann, Korschelt), nicht näher verfolgt. Auch die Pilze selbst sind bis in die neueste Zeit unvollständig bekannt gewesen; Malz- und Säure-Verzuckerung absorbierten das Interesse des Brennereitechnikers. Beim sogenannten Takamineverfahren wird das verzuckernde Enzym dem auf Weizenkleie gezüchteten oft genannten Aspergillus Oryzae des japanischen „Koji“ in großen Diffusionsapparaten entzogen und nach Maischung schließlich mittels Hefe vergoren. Ueber die Gärung sind viele unrichtige kritiklose Angaben in der Litteratur verbreitet. Die Ersparnis gegenüber dem alten Verfahren berechnete die amerikanische Gesellschaft zu 6—7 M. — Neueren Datums ist das Amylo-Verfahren der französischen Gesellschaft „Amylo“, die den als „Amylomyces“ bezeichneten Pilz der sogenannten „chinesischen Hefe“ benutzt. Dieser Pilz hat bis heute noch seinen richtigen Namen nicht gehabt, der wissenschaftlichen Forschung im Dienste des Gewerbes genügte der nichts aussagende Trivialname. Beim Amylo-Verfahren sät man den Pilz direkt in die mit Hilfe von 1 bis 2 Proz. Malz zunächst verflüssigte sterile Maismaische, wenige Gramm der Pilzkultur verzuckern in 2—3 Tagen 100000 l Maische, die dann durch einige Gramm Hefeeinsaat — alles in sterilisierten, hermetisch verschlossenen, großen Gefäßen aus Eisen — in 4 Tagen vergoren wird. Ursprünglich sollte der Pilz auch die Vergärung besorgen, die Alkoholbildung durch Schimmelpilze ist aber anscheinend nicht intensiv genug. Von Frankreich (Seclin bei Lille) und Belgien (Antwerpen, Ankerbrennerei) ausgehend, soll das Verfahren nach Angabe Foth's in vielen Brennereien (teilweise größten Maßstabes) in Frankreich, Belgien, Italien, Spanien, Ungarn in Betrieb sein, auch in Norwegen und Rußland eingerichtet werden. Jetzt will man auch in Deutschland Versuche machen.

Uebrigens ist dieser als „Amylomyces“ bezeichnete Mucor

Rouxii weder der einzige noch der intensivste Zuckerbildner, er hat auch sonst seine Eigenheiten, und die Wirksamkeit der bunt zusammengesetzten chinesischen Hefekuchen („Ragi“), aus denen Went 2 weitere derartige Pilze beschrieben hat, ist nicht auf ihn allein zurückzuführen. Es wäre erwünscht, daß dem Studium dieser mikroskopischen Schimmelformen auch bei uns mehr Aufmerksamkeit geschenkt würde und sich nicht alles um Hefen und Bakterien drehte. Wissenschaft wie Praxis zögen Nutzen daraus; dazu gehören aber entsprechend eingerichtete Laboratorien.

Die zweite große Gruppe gewerblich bedeutsamer Mikroorganismen-Wirkungen umfaßt die bakteriellen Umformungen stickstoffhaltiger Substanzen, mit der Fäulnis und ammoniakalischen Harnstoffgärung beginnend, mit der Salpetersäure meist abschließend. Hauptinteressent ist hier die Landwirtschaft (Pflanzenbau), neben der Hygiene (Abwässerreinigung) zieht auch die Chemie Nutzen daraus, Salpeter ist Bakterienprodukt — Salpeterplantagen, Chilisalpeter. Unmerklich und im Verborgenen leisten diese Prozesse quantitativ Außerordentliches (jährliche Harnstoffmenge Hannovers z. B. rund 50000 Centner), sie liegen der Technik aber ferner. Denitrifikation und Assimilation freien Stickstoffs schließen den Kreislauf des Stickstoffs in anderer Weise. Im Nitragin und Alinit (Farbwerke Höchst und Farbenfabriken Elberfeld) kommen übrigens Kulturen solcher Bakterien auch aus chemischen Fabriken. Hier bleibt noch Manches festzustellen, Ansichten und Resultate differieren oft. Die Harnstoffzersetzung soll Enzymwirkung (Hydrolyse) sein, die Nitrifikation scheint in zwei Phasen (Nitrit- und Nitratbildung) durch spezifisch verschiedene Bakterien zu verlaufen; die Stickstoffassimilation ist noch ganz dunkel, neuerdings aber von mehreren Mikroorganismen behauptet.

Zu einer dritten großen Gruppe können wir alles zusammenfassen, was in den zwei ersten keinen Platz hatte. Hier handelt es sich vorwiegend um substanzzerstörende Wirkungen von Bakterien als Nebenprozesse in einer ganzen Zahl von Gewerben, spontan eintretend, bisweilen auch durch rein chemische Verfahren ersetzt, teilweise kaum näher gekannt. Feste Gewebsbestandteile vegetabilischer oder animalischer Natur werden zersetzt bei der Gespinstfaser-Gewinnung (Flachs und Hanfrötte), bei der Darstellung von Stärke und Leder (Fellreinigung, Schwitzen). Fasern und Stärke sind Mikroorganismenwirkungen gegenüber widerstandsfähiger. Saftbestandteile werden zerstört bei der Tabaksfermentation (Schwitzen), den Gärungen der eingemachten Gemüse (Bohnen, Gurken u. a.), des Opiums, der Kakaobohnen (?), ähnlich auch bei der Regenerationsgärung der Knochenkohle. Ueber die Farbpflanzen- und Färbereigärungen ist man wohl noch nicht ganz im klaren (Blauholz, Orseille, Küpengärung), doch scheint beim Indigo ein pflanzliches Enzym in Frage zu kommen; bakteriologisch sind diese Prozesse kaum angeschnitten. Das Gegenteil gilt von dem komplizierten und schlecht unterzubringenden Vorgange der Käsereifung. Die Bakterien der Flachsrötte, Tabakfermentation, Gemüsegärungen, Käsereifung sind näher studiert, teilweise hat man schon mit Reinkulturen gearbeitet, allerdings nicht ohne etwas Enttäuschung (edel fermentierter Tabak).

Bei der Brotgärung (Weißbrot) kommt Gasentwickelung durch Hefen zum Lockermachen des Teiges in Frage, bei der durch das uralte Ferment „Sauerteig", insbesondere Essig- und Milchsäurebildung. Das leitet wieder zu den gewerblichen Säuregärungen über, die in der Brennerei, Gerberei, Molkerei und Landwirtschaft eine Rolle spielen, bei idealem Verlauf reine Milchsäuregärungen sein sollen (Hefenmaische-, Lohbrühen-, Kleienbeize-, Rahmsäuerung, Einsäuern von Futtermitteln: Heu, Schnitzel, Treber, Rübenblätter, Sauerkraut), was praktisch nur unter Vorsichtsmaßregeln erreicht wird. Verwendung finden Reinkulturen im Brennerei- und Molkereigewerbe (Säurewecker), letzteres macht freilich noch besondere Ansprüche an aromabildende Eigenschaften seiner Bakterien. Kombinierte Wirkung von Milchsäurebakterien und Hefen liegt in der Alkohol- und säurehaltigen Kephirmilch vor, Buttermilch ist rein milchsauer.

Mit Recht hat die neuere Zeit diesen Bakterienleistungen ihre Aufmerksamkeit zugewendet, sie gehen auch die Chemie an. Verständis der Mikroorganismen verschafft nur das Mikroskop, auch von dieser Seite tritt also an den heranwachsenden Chemiker die Forderung heran, sich mit den elementaren mikroskopischen Operationen vertraut zu machen.

Entwickelungshemmung und Vernichtung der Bakterien etc.

Peglion, V. und **Mengarini, F.**, La desinfezione degli oggetti artistici di legno colpiti dal tarlo. (Bollettino di Notizie agrarie. 1899. No. 32. p. 1320.)

Verf. berichtet über die gelungene Desinfektion einer wertvollen Violine, welche vom Holzwurm befallen war, vermittelst eines für diesen besonderen Zweck hergestellten Apparates unter Anwendung von Blausäuregas. Moritz (Berlin).

Murrill, W. A., The prevention of peach leaf-curl. (New York Cornell Sta. Bull. 180. p. 16. Fig. 1.)

Verf. hat ziemlich umfangreiche Versuche über Verhütungsmittel der Kräuselkrankheit der Pfirsichblätter ausgeführt. Die Elbertavarietät ist sehr empfänglich gegen die Kräuselkrankheit. Die vom Verf. verwendeten Heilmittel waren Kupfervitriol-Kalkbrühe, Kupfervitriol, Kalk, schwefelsaures Kali und Kupferkarbonat-Ammoniakbrühe. Die am meisten befriedigenden Resultate hat eine aus 1,4 kg Kupfervitriol, 0,95 kg Kalk und 100 l Wasser bestehende Kupfervitriol-Kalkbrühe gegeben. Die Bespritzung sollte zu der Zeit der Anschwellung der Blattknospen stattfinden. Wenn das Wetter von dieser Zeit bis zur ersten Woche im Mai gut bleibt, so ist eine zweite Behandlung nicht nötig, wogegen bei schlechtem Wetter eine zweite Bespritzung mit einer schwächeren Kupfervitriol-Kalkbrühe zu empfehlen ist. E. V. Wilcox (Washington).

Neue Litteratur,

zusammengestellt von
San.-Rat Dr. Arthur Würzburg,
Bibliothekar im Kaiserl. Gesundheitsamte in Berlin.

Allgemeines über Bakterien und Parasiten.

Baumgarten, Der gegenwärtige Stand der Bakteriologie. (Berl. klin. Wchschr. 1900. No. 27, 28. p. 585—588, 615—618.)
Simonetta, L., Le misure di profilassi in un laboratorio di bacteriologia. Proposte. 8⁰. 28 p. Siena (Tip. Bernardoni) 1900.

Untersuchungsmethoden, Instrumente etc.

v. Borosini, A., Glaskolben zur Herstellung von Nährböden. (Centralbl. f. Bakteriol. etc. I. Abt. Bd. XXVIII. 1900. No. 1. p. 23.)
Certes, A., Colorabilité élective des filaments sporifères du Spirobacillus gigas vivant par le bleu de méthylène. (Compt. rend. de l'acad. d. scienc. T. CXXXI. 1900. No. 1. p. 75—77.)
Gorham, F. P., Some laboratory apparatus. (Journ. of the Boston soc. of med. scienc. Vol IV. 1900. No. 10. p. 270—271.)
Herford, M., Untersuchungen über den Piorkowski'schen Nährboden. (Ztschr. f. Hygiene etc. Bd. XXXIV. 1900. Heft 2. p. 341—345.)
Petri, R. J., Neue, verbesserte Gelatineschälchen (verbesserte Petri-Schälchen). (Centralbl. f. Bakteriol. etc. I. Abt. Bd. XXVIII. 1900. No. 3. p. 79—82.)
Robey, W. H., Methods of staining flagella. (Journ. of the Boston soc. of med. scienc. Vol. IV. 1900. No. 10. p. 272—275.)

Systematik, Morphologie und Biologie.

Dietel, P., Uredineae japonicae. II. (Botan. Jahrb. f. Systemat., Pflanzengeschichte u. Pflanzengeographie. Bd. XXVIII. 1900. Heft 3. p. 281—290.)
Fernbach, A. et **Hubert, L.**, Sur la diastase protéolytique du malt. (Compt. rend. de l'acad. d. scienc. T. CXXX. 1900. No. 26. p. 1783—1785.)
Fischer, A., The structure and functions of bacteria. Transl. by A. C. Jones. 8⁰. London (Clarendon Press) 1900. 8/6 d.
Gillot, H., Recherches expérimentales sur l'hydrolyse et l'utilisation de la raffinose par le Penicillium glaucum. [Extr. d. Bullet. de l'acad. roy. de Belgique. Classe scienc. 1900. No. 2.] 8⁰. 31 p. Bruxelles 1900.
Hahn, M. u. **Geret, L.**, Ueber das Hefe-Endotrypsin. (Ztschr. f. Biologie. Bd. XXII. 1900. Heft 2. p. 117—172.)
Klebs, G., Zur Physiologie der Fortpflanzung einiger Pilze. III. Allgemeine Betrachtungen. (Jahrb. f. wissensch. Botan. Bd. XXXV. 1900. Heft 1. p. 80—203.)
v. Linstow, Helminthologische Beobachtungen. (Arch. f. mikroskop. Anat. Bd. LVI. 1900. Heft 2. p. 362—376.)
Marx, H. u. **Woithe, F.**, Morphologische Untersuchungen zur Biologie der Bakterien. (Centralbl. f. Bakteriol. etc. I. Abt. Bd. XXVIII. 1900. No. 1—4/5. p. 1—11, 33—39, 65—69, 97—111.)
Morgenthaler, J., Der echte Mehltau. Oïdium Tuckeri Berk. 2. Aufl. gr. 8⁰. 35 p. Mit Abbild. Aarau (Emil Wirz) 1900. 0,60 M.
Odhner, Th., Gymnophallus, eine neue Gattung von Vogeldistomen. (Centralbl. f. Bakteriol. etc. I. Abt. Bd. XXVIII. 1900. No. 1. p. 12—23.)
Pozerski, Action de quelques ferments solubles après refroidissement vers — 191 degrés au moyen de l'air liquide. (Compt. rend. de la soc. de biol. 1900. No. 26. p. 714—716.)
Prowazek, S., Protozoenstudien. II. (Arb. a. d. zoolog. Instit. Wien. Bd. XII. 1900. Heft 3. p. 243—300.)
Raciborski, M., Parasitische Algen und Pilze Javas. III. Teil. gr. 8⁰. 49 p. Batavia (Staatsdruckerei) 1900.
de Rey-Pailhade, J., Fermentation chimique par la levure en milieu antiseptique. (Bullet. de la soc. chim. de Paris. 1900. No. 15. p. 666—668.)
Sarthou, J., Sur quelques propriétés de la schinoxydase. (Journ. de pharm. et de chimie. T. XII. 1900. No. 3. p. 104—108.)

Stossich, M., Contributo allo studio degli elminti. 8°. 9 p. con 2 tav. Trieste (Tipogr. del Lloyd) 1900.
Wolffhügel, K., Drepanidotaenia lanceolata Bloch. (Centralbl. f. Bakteriol. etc. I. Abt. Bd. XXVIII. 1900. No. 2. p. 49—56.)
Zettnow, Weitere Entgegnung zu Dr. Feinberg's Arbeit: „Ueber das Wachstum der Bakterien". (Dtsche med. Wchschr. 1900. No. 27. p. 443—444.)

Beziehungen der Bakterien und Parasiten zur unbelebten Natur.

Luft und Wasser.

Delorme, E., Désinfection des puits par le permanganate de potasse. (Annal. d'hygiène publ. et de méd. légale. 1900. Août. p. 97—102.)

Nahrungs- und Genußmittel im allgemeinen, Gebrauchsgegenstände.

Halliburton, W. D., Remarks on the use of borax and formaldehyde as preservatives of food. (Brit. med. Journ. 1900. No. 2062. p. 1—2.)
Liebreich, O., Ueber die angebliche Giftigkeit des Borax und der Borsäure. (Therapeut. Mtsh. 1900. Heft 7. p. 367—369.)

Fleisch.

Deutsches Reich. Gesetz, betr. die Schlachtvieh- und Fleischbeschau. Vom 3. Juni 1900. (Veröffentl. d. kaiserl. Gesundh.-A. 1900. No. 29. p. 699—702.)
Mitchell, C. A., Flesh foods, with methods for their chemical, microscopical, and bacteriological examination. A practical handbook for medical men, analysts, inspectors, and others. 8°. 352 p. With illusts. and coloured plate. London (C. Griffin) 1900. 10 sh. 6 d.
Preußen. Reg.-Bez. Münster. Polizeiverordnung, betr. die mikroskopische Untersuchung des Schweinefleisches auf Trichinen. Vom 29. Januar 1900. (Veröffentl. d. kaiserl. Gesundh.-A. 1900. No. 30. p. 730.)

Milch, Molkerei.

Beck, M., Experimentelle Beiträge zur Untersuchung über die Marktmilch. (Dtsche Vierteljahrsschr. f. öffentl. Gesundheitspfl. 1900. Heft 3. p. 430—445.)
Gouin, R., Le beurre et l'acide borique. (Journ. d'agricult. prat. 1900. No. 27. p. 14—16.)
Helm, W., Gewinnung und Absatz von frischer, tuberkelbacillenfreier Trinkmilch [Eismilch]. (Dtsche Vierteljahrsschr. f. öffentl. Gesundheitspfl. 1900. Heft 3. p. 446—458.)
Hirt, C., Ueber peptonisierende Milchbacillen. Inaug.-Dissert. 8°. 30 p. Straßburg i. E. 1900.
Klimmer, M., Ziele und Wege der Milchhygiene. (Arch. f. wissenschaftl. u. prakt. Tierheilk. 1900. Heft 6. p. 407—446.)
Ziegelroth, Ueber das Sterilisieren von Milch und Wasser. (Arch. f. physik.-diätet. Therapie. 1900. Heft 8. p. 199—201.)

Wein, Weinbereitung.

Gayon, U., Les maladies du vin. (Moniteur vinicole. 1900. No. 48. p. 190.)
Peglion, V., La sterilizzazione dei mosti ed i lieviti puri. (Estr. d. Giorn. di viticolt. e di enolog. 1900.) 8°. 5 p.

Andere Nahrungs- und Genußmittel.

Mari, N., Ueber vier Fälle von Inklusionen in Hühnereiern. (Russk. arch. patol., klinitsch. med. i bacteriol. Bd. IX. 1899. Abt. 3/4. [Russisch.]

Wohnungen, Abfallstoffe etc.

Gorham, F. P., Stable disinfectant. (From the Ann. rep. 1899 of the Rhode Island State Board of Agricult.) 8°. 10 p. Providence (E. L. Freeman & Sons) 1900.
Gorini, C., Sulla disinfezione degli ambienti mediante la formaldeide. (Policlinico. 1900. 1. Marzo.)

Beziehungen der Bakterien und Parasiten zu Pflanzen.

Harmlose Bakterien und Parasiten.

Thiele, R., Zur Verbreitung der Leguminosenbakterien. (Fühling's landwirtschaftl. Ztg. 1900. Heft 14. p. 543.)

Krankheitserregende Bakterien und Parasiten.

Calas, Restauration et conservation des terrains en montagne. La processionnaire du pin, Cnethocampa pityocampa; moeurs et métamorphoses; ravages; destruction. 8°. 91 p. 8 planch. Paris (Impr. nation) 1900.

Cavazza, D., La maladie noire de la vigne (gélivure, gommose bacillaire etc.) (Annal. du laborat. de chimie et du comice agric. de Bologne 1898/99; Vigne amér. No. 5, 6. p. 155—157, 182—186.)

Green, E. E., Tea-mites and some suggested experimental work against them. (Royal botan. gardens, Ceylon. Ser. I. 1900. No. 17. p. 197—206.)

Landes, G., Les insectes qui attaquent le cacaoyer. (Rev. d. cultur. colonial. 1900. No. 51. p. 228—232.)

Lüstner, G., Die Weinblattmilbe (Phytoptus vitis). (Mitt. üb. Weinbau u. Kellerwirtsch. 1900. No. 6. p. 88—89.)

Magnus, P., Ueber den auf Chrysanthemum indicum auftretenden Rostpilz. (Gartenflora. 1900. Heft 11. p. 294—296.)

Müller-Thurgau, H., Die Monilienkrankheit oder Zweigdürre der Kernobstbäume. (Schweizer. Ztschr. f. Obst- u. Weinbau. 1900. No. 13/14. p. 198—204.)

— —, Die Peronospora an den Traubenblüten. (Schweizer. Ztschr. f. Obst- u. Weinbau. 1900. No. 15. p. 225—227.)

Musso, G. A., La mosca olearia nel 1899 in Pontedassio. Memoria. 16°. 35 p. Oneglia (G. Ghilini) 1900.

Noske, W. Chr., Vijanden van den tuinbouw en hunne bestrijdingsmiddelen. Dl. II. No. 6. gr. 16°. 280 p. Amsterdam (H. J. W. Becht) 1900. 2,50 fl.

Thierry, A., La maladie des racines ou maladie vermiculaire du caféier. (Rev. d. cultur. colonial. 1900. No. 46, 47. p. 78—84, 110—116.)

— —, Un ennemi du cacaoyer. (Rev. d. cultur. colonial. 1900. No. 52. p. 261—269.)

Zimmermann, A., Die Nematodenkrankheit der Kaffeepflanzen auf Java. (Bullet. de l'Instit. botan. de Buitenzorg. 1900. No. 4. p. 11—19.)

Entwickelungshemmung und Vernichtung der Bakterien.

Leoni, A. M., Ricerche sul potere insetticida dell' acetilene. (Estr. d. period. Le stazioni sperimentali agrarie italiane. Fasc. XIV. 1898.) 8°. 6 p. Mantova (A. Mondovi e Figli) 1900.

Lindner, P. u. Schellhorn, B., Versuche über die Wirkung von Mikrosol auf Gärungsorganismen. (Wchschr. f. Brauerei. 1900. No. 33. p. 505—506.)

Passerini, N., Esperienze sugli usi agricoli e domestici della formaldeide, sua azione sopra alcuni fermenti viventi. (Atti d. r. accad. economico-agraria dei Georgofili di Firenze. 1899. Disp. 2.)

Zehntner, L., Formalin als Konservierungsmittel. (Illustr. Ztschr. f. Entomol. 1900. No. 14. p. 216—217.)

Inhalt.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.

// CENTRALBLATT
für
Bakteriologie, Parasitenkunde u. Infektionskrankheiten.

Zweite Abteilung:
Allgemeine, landwirtschaftlich-technologische Bakteriologie, Gärungsphysiologie, Pflanzenpathologie und Pflanzenschutz.

In Verbindung mit
Prof. Dr. **Adametz** in Wien, Prof. Dr. **J. Behrens** in Karlsruhe i. B., Prof. Dr. **M. W. Beijerinck** in Delft, Dr. **v. Freudenreich** in Bern, Privatdocent Dr. **Lindau** in Berlin, Prof. Dr. **Lindner** in Berlin, Dr. **Morris**, Chef des Hansen-Laboratory, Jenner-Institute of Preventive Medicine in London, Prof. Dr. **Müller-Thurgau** in Wädensweil, Dr. **Erwin F. Smith** in Washington, D. C., U. S. A., Prof. Dr. **Stutzer** in Breslau, Prof. Dr. **Wehmer** in Hannover, Prof. Dr. **Weigmann** in Kiel und Prof. Dr. **Winogradsky** in St. Petersburg
herausgegeben von
Dr. O. Uhlworm in Cassel
und
Prof. Dr. Emil Christian Hansen in Kopenhagen.

Verlag von Gustav Fischer in Jena.

VI. Bd. **Jena,** den 24. Oktober 1900. **No. 20.**

**Jährlich erscheinen 26 Nummern. Preis für den Band (Jahrgang) 20 Mark.
Preis für eine einfache Nummer 75 Pfg., für eine Doppelnummer 1 Mark 50 Pfg.
Nummern mit Tafeln kosten für jede Tafel 50 Pfg. mehr.**

Hierzu als regelmäfsige Beilage die Inhaltsübersichten der I. Abteilung des Centralblattes.

Wünsche wegen Lieferung von besonderen Abdrücken wollen die Herren Mitarbeiter auf die Manuskripte schreiben oder bei Rücksendung der ersten Korrekturabzüge der Verlagsbuchhandlung mitteilen.

Original-Mitteilungen.

Nachdruck verboten.

Versuche über Bakterienkrankheiten bei Kartoffeln.

[Mitteil. aus d. landw. botan. Versuchsanstalt in Karlsruhe.]

Von **Hjalmar Jensen.**

Im verflossenen Jahre habe ich verschiedene Untersuchungen über Bakterienkrankheiten bei Kartoffeln angefangen. Diese Untersuchungen sind durchaus nicht zu Ende geführt; trotzdem veröffentliche ich schon jetzt einen Teil meiner Resultate, da ich keine Aussicht habe, die Versuche selbst weiterzuführen. Jedenfalls können

die folgenden Notizen dem Einem oder dem Anderen, der sich mit derselben Sache beschäftigt, etwas Arbeit ersparen.

I. Eisenfleckenkrankheit.

Diese mystische Krankheit zeigt sich als zerstreute rostbraune Flecken im Inneren der Kartoffeln; sie liegen ganz isoliert, ohne Verbindung miteinander oder mit der Außenwelt. Die Größe der Flecken variiert stark, bald sind sie nicht größer als eine Stecknadelspitze, bald bis zu 1 cm im Durchmesser. Auch die Anzahl variiert sehr, von einem einzigen bis zu so vielen, daß die ganze Kartoffel wie marmoriert aussieht.

Das mikroskopische Bild zeigt gebräuntes, zusammengeballtes Protoplasma, ähnlich der hypothetischen Pseudocommis. In der Peripherie jedes Fleckes findet Korkbildung statt. Die Intercellularen können mit einer braunen Substanz erfüllt werden. Mycelium oder Bakterien konnte ich ebensowenig wie frühere Forscher finden.

Bis jetzt ist die Natur dieser Krankheit vollständig unaufgeklärt. Da die Flecken im Inneren der Knollen ohne Spur von Verbindung mit dem Aeußeren vorkommen, so ist wohl nicht daran zu denken, daß sie durch Insektenangriffe oder andere gewaltsame Eingriffe von außen auf die ausgewachsenen Knollen hervorgerufen werden. Sollten solche Angriffe die Ursache sein, so müßten sie jedenfalls schon auf die ganz jungen Knollenanlagen eingewirkt haben.

Viel eher könnte man an die „kleinsten Organismen“ eines „Contagium vivum“ denken, wie solche ja wahrscheinlich an der Mosaikkrankheit des Tabaks [1], an der Maul- und Klauenseuche [2] und an der Peripneumonie [3] beteiligt sind. Ich versuchte infolgedessen, ob es gelingen würde, eine Infektion hervorzubringen. Zu diesem Zwecke impfte ich kleine Stückchen von den Flecken kranker Kartoffeln auf ursterile und auf sterilisierte Kartoffelstückchen; die geimpften Stückchen wurden teils in Luft, teils unter Wasser (ca. 20 cm hoch) gehalten. In keinem von den vielen Versuchen konnte eine Infektion konstatiert werden trotz einer Versuchsdauer von 2—3 Monaten und trotzdem die meisten sich vollständig steril hielten. Nur in einem Falle zeigte die mikroskopische Untersuchung der an die Impfstelle grenzenden Gewebe eine eigentümliche, aber schwache Gelbfärbung der Zellkerne, eine Anhäufung des Protoplasmas um diese und eine braungefärbte Substanz in einigen Intercellularen. Diese Erscheinungen hatten also eine gewisse Aehnlichkeit mit den Phänomenen der Eisenfleckenkrankheit, aber sie waren zu schwach hervortretend, um auf eine wirkliche Ansteckung mit Sicherheit schließen zu können.

Später sind Vegetationsversuche angestellt worden mit gesunden und eisenfleckigen Kartoffeln in sterilisierter und unsterilisierter Erde, mit zerhackten kranken Kartoffeln geimpft und nicht geimpft. Mit ganz wenigen Ausnahmen gingen sämtliche Pflanzen, die in

---

1) Beijerinck, Centralbl. f. Bakt. etc. 2. Abt. Bd. V. 1899.
2) Loeffler u. Frosch, Centralbl. f. Bakt. etc. 1. Abt. Bd. XXIII. 1898.
3) Nocard u. Roux, Ann. de l'Inst. Pasteur. T. XII. 1898.

Wagner'schen Töpfen kultiviert wurden, ein, indem sie durch Stengelbakteriosis (s. unten) angegriffen wurden.

II. Bakteriosis der Kartoffelstengel.

Bei der mikroskopischen Untersuchung von „schwarzbeinigen" Kartoffelpflanzen findet man gewöhnlich die Zellen der dunkel gefärbten Stengelteile mit einem Gemenge von Bakterien, Pilzfäden, Nematoden u. a. erfüllt. Was von allen diesen die eigentliche Ursache ist, ist infolgedessen schwer zu entscheiden. Bei den oben erwähnten mißlungenen Kartoffel-Topfkulturen trat nun eine verheerende Krankheit auf, die in mancher Beziehung an „Schwarzbeinigkeit" erinnerte. Der bedeutendste Unterschied bestand in der helleren Farbe der kranken Stengel; diese waren nicht schwarz oder dunkelbraun, sondern vielmehr leicht hellbraun. Die Krankheit war augenscheinlich durch Bakterien verursacht. Die Richtigkeit dieser Annahme trat namentlich bei einigen Töpfen hervor, in welchen die Erde im Autoklaven sterilisiert war und die eingelegten Kartoffeln mit Sublimatwasser abgespült waren [1]). Hier waren die Krankheitssymptome nämlich bedeutend einfacher als bei den auf den Feldern vorkommenden „schwarzbeinigen" Kartoffelpflanzen. Nematoden und Mycelium konnte ich gar nicht finden; dagegen traten Bakterien (Mikrokokken) massenhaft auf und, was sehr auffallend war, füllten diese einzelne Zellen vollständig, während andere Nachbarzellen ganz bakterienfrei waren. Von den kranken Teilen habe ich Schnittpräparate gemacht sowohl im frischen Zustande als in Paraffin eingebettet, ohne daß es mir möglich war, irgendwelche Löcher oder Oeffnungen wahrzunehmen. Wie die Bakterien also da eingedrungen sind, bleibt vorläufig unaufgeklärt. In einem frischen Präparate hatte ich den Eindruck, als ob die Bakterien sich vor einer Pore in Masse ansammelten; hatten sie vielleicht die dünne Porenmembran gelöst und dadurch eine Oeffnung hervorgebracht? Das war mir nicht möglich zu entscheiden.

Von den kranken Stengeln habe ich ferner Gießplatten mit Bouillonagar angelegt. Die Bakterien bildeten runde, weißliche, durchscheinende Kolonieen von wenig charakteristischem Aussehen. Mit solchen Kulturen habe ich weiter Impfversuche vorgenommen. Ein direktes Einimpfen mit der Platinnadel in die Stengel hatte keinen Erfolg. Die kleine Wunde vernarbte sehr schnell und die Mikrokokken waren nicht imstande, die Krankheit hervorzurufen. Ich probierte dann, ob sie nach einem saprophytischen Leben in Berührung mit dem Zellgewebe des Kartoffelstengels dieses angreifen könnten [2]). Kleine Stückchen wurden aus den Stengeln ausgeschnitten mit flambiertem Skalpell; auf die Wunden wurden kleine, mit Bakterien geimpfte Agarstückchen

1) Der eigentliche Sinn des Versuches war die Untersuchung über Eisenflecken; da ich nicht annehmen konnte, daß Keime dieser Krankheit sich in der Laboratoriumsluft befanden, beobachtete ich keine besondere Vorsicht einer Luftinfektion gegenüber. Daher die Bakterien. In anderen Versuchen wurden zerschnittene kranke Kartoffeln direkt zugegeben.

2) Vgl. Nordhausen, Pringsheim's Jahrb. Bd. XXXIII, 1898.

gelegt und das Ganze mit feuchtem Filtrierpapier (oder in späteren Versuchen noch besser mit Oblaten) umgeben. Durch diese Versuchsanstellung wurden die Pflanzen krank; zu beiden Seiten der Impfstelle bräunten sich die Stengelteile und infolgedessen starb das Kraut oberhalb der Impfstelle gänzlich ab. In den kranken Stengelteilen waren Mikrokokken massenhaft vorhanden.

Sowohl bei den künstlich infizierten wie bei den spontan krank gewordenen Kartoffelpflanzen machte ich eine Beobachtung, die vielleicht zur Erklärung des Parasitismus dieses Bakteriums beitragen kann. Mit Neßler's Reagens zeigten Scheiben der kranken, schon braungefärbten Stengelteile eine momentane, sehr starke Ammoniakreaktion. In den angrenzenden grünen Teilen, wo Bakterien noch nicht vorhanden waren (übrigens nur durch mikroskopische Untersuchung, nicht durch die Kulturmethode nachgewiesen!), wurde immerhin schon eine ganz starke Reaktion beobachtet; je weiter von der Impfstelle, desto schwächer wurde diese, bis ich in einem Abstande von 2—6 cm keine Reaktion mit Neßler's Reagens eintreten sah. Möglicherweise beruht also die Giftwirkung des vorhandenen Micrococcus auf einer Ammoniakbildung. Indessen habe ich nicht untersucht, ob nicht auch andere Gifte, wie z. B. bei Botrytis, nachgewiesen werden können.

Wenn die NH_3-Bildung bei dem Krankwerden der Pflanzen beteiligt war, mußte man erwarten, daß auch andere NH_3-bildende Bakterien dieselbe Krankheit hervorrufen können. Es ist mir in der That auch gelungen, solche Krankheitssymptome durch Impfung mit Bacterium mycoides, Proteus vulgaris und Bacillus coli zu erzeugen. Die Bakterien wurden mit einem Agarstückchen auf eine Wundstelle geimpft; wenn der Oblatenumschlag dann feucht gehalten wurde, trat die Krankheit ein.

Trotzdem die oben erwähnten Versuche und Beobachtungen ziemlich lückenhaft und dürftig sind, glaube ich doch, das Krankheitsbild folgendermaßen zeichnen zu können: Durch zu große Feuchtigkeit im Boden sind die Bedingungen für das Verfaulen der durchgeschnittenen Knollen so günstig geworden, daß ein solches eingetreten ist. Die im Anfang saprophytisch lebenden Bakterien haben NH_3 gebildet; dies ist von den jungen Stengeln aufgenommen, und zwar in so großer Menge, daß die Zellen getötet sind; die Bakterien können jetzt in die Gewebe weiter und weiter eindringen, indem die voranliegenden Zellen durch das gebildete NH_3 stets erst absterben. Als Krankheitserreger kann jede NH_3-bildende Bakterie (oder jedenfalls mehrere verschiedene) auftreten.

III. Prädisposition der Knollen.

Bedeutend widerstandsfähiger gegen Bakterien als die Stengel sind die Knollen. Wenn sie verletzt werden, bilden sie mit größter Schnelligkeit eine Korkschicht, die das weitere Eindringen der Bakterien verhindert. Nach Laurent[1]) kann die Widerstandsfähigkeit, die in erster Linie auf der saueren Reaktion des Zellsaftes beruht,

1) Ann. de l'Inst. Pasteur. T. XIII. 1899.

willkürlich geändert werden teils durch Zusatz von geeigneten Düngungssalzen bei den Kulturen, teils durch Behandlung der Knollen selbst mit NaOH. Hierdurch wird der Zellsaft weniger sauer und eine sonst nicht pathogene Bakterie, wie B. coli, soll dann die Kartoffelknollen angreifen können. Ich habe einige von den Laurentschen Grundversuchen wiederholt, aber mit durchaus negativem Resultate. Ich verwendete die Sorten: Magnum bonum, Zwickauer, Junker und Kleopatra. Nach gründlichem Abbürsten mit Sublimatwasser (2 ‰) blieben die Kartoffeln noch 2 Stunden in dieser Lösung liegen. Danach wurden sie mit flambierter Pincette aufgenommen, mit flambiertem Messer durchgeschnitten und schnell in sterilisierte NaOH-Lösung (1 ‰ und 2 ‰) gebracht. Nach 1, 2 oder 3 Stunden wurden die Kartoffeln aus der NaOH-Lösung herausgenommen und in feuchte, mit Sublimatlösung abgespülte Glasschalen gebracht, wonach mit B. coli geimpft wurde. Durch die Behandlung mit NaOH war eine Schicht von 1—2 mm getötet und stark „alkalisiert“; dagegen war die Kartoffel unter dieser Schicht ganz normal mit sauer reagierendem Zellsafte. Schon die abgestorbene, stark alkalische Schicht scheint dem Bacillus coli wenig zu gefallen; bei den meisten Kartoffeln war gar kein Wachstum zu beobachten; bei den einzelnen, wo B. coli sich vermehrt hatte, beschränkte das Wachstum sich auf die tote Schicht; der gesunde innere Teil wurde gar nicht angegriffen.

Anders verhielt die Sache sich, wenn ich weniger Vorsicht in Beziehung auf sterile Arbeit zeigte, wenn ich z. B. beim Durchschneiden der Kartoffeln ein nicht flambiertes Messer gebrauchte. Schon nach einem Tage war eine reichliche Bakterienflora vorhanden; aber ein Unterschied zwischen den mit B. coli geimpften und den nicht geimpften Kartoffeln war nicht zu sehen, trotzdem ich sehr reichlich mit B. coli geimpft hatte (ca. 10 Tropfen einer flüssigen Kultur). Bei einzeln Kartoffeln (sowohl geimpften als ungeimpften) wurde der gesunde Teil von Bakterien angegriffen (infolge spontaner Infektion), welche die Intercellularsubstanz unter Schaumbildung lösten; bei den meisten aber wurde nur die durch NaOH getötete Schicht angegriffen, bei den mit B. coli geimpften wie bei den ungeimpften.

Wenn ich die Kartoffeln erst nach der Behandlung mit NaOH durchschnitt, so daß die Schnittflächen selbst nicht mit NaOH in Berührung kamen, bildete sich trotz einer reichlichen Impfung mit B. coli immer eine Korkschicht, und die Bakterien konnten sich gar nicht entwickeln.

Die bei diesen Versuchen erhaltenen Resultate könnten darauf deuten, daß einige kartoffelangreifenden Bakterien sich bei den Laurent'schen Versuchen eingeschlichen haben, daß der richtige Bacillus coli[1]) aber nicht imstande ist, „alkalisierte“ rohe Kartoffeln anzugreifen. Die Versuche müssen aber vielmals wiederholt und geändert werden, um mit Sicherheit diese Schlußfolgerungen abzuleiten.

---

1) Die Kultur war mir gütigst von Prof. Migula übergeben.

IV. Naßfäule und Aufbewahrungsversuche in Mieten.

Aus seinen Untersuchungen schließt Wehmer[1]), daß die Bakterien bei der Naßfäule der Kartoffeln eine sekundäre Rolle spielen, indem die Kartoffeln erst durch physikalische oder chemische Einflüsse krank werden müssen, bevor die Bakterien angreifen können. Bei den kranken Kartoffeln zeigen sich zunächst dunkel gefärbte Partieen im Inneren der Knollen und erst nachträglich werden sie naßfaul. Ich habe versucht, die Bedingungen herauszufinden, bei welchen diese Schwarzfärbung auftritt, aber ohne Erfolg. Dagegen glaube ich ziemlich sicher behaupten zu können, daß man gesunde Knollen durch Impfung mit Bakterien krank machen kann, ohne daß ein vorheriges Schwarzwerden eintritt oder nötig ist, daß also die Bakterien vollständig primäre Erreger der Krankheit sein können. Dies ist mir z. B. mit einem Stäbchenbakterium (ungefähr 5mal so lang als dick) gelungen, das ich von gärenden Kartoffeln reinkultiviert hatte; das Bakterium löste mit großer Energie die Intercellularsubstanz; die Krankheit verbreitete sich von der Impfstelle aus ohne vorhergehende Dunkelfärbung der Gewebe. Dadurch ist selbstverständlich nicht ausgeschlossen, daß die Kartoffeln auch durch physikalische oder chemische Einflüsse getötet werden können und nachträglich oder gleichzeitig von den Bakterien befallen werden. Dieses wird sogar vielleicht in der Praxis das häufigste sein, weil solche Bedingungen, die für den bakteriellen Angriff der Knollen günstig sind, eben auch ein Krankwerden derselben hervorrufen können.

Diese Auffassung wird durch einige Versuche über die Aufbewahrung der Kartoffeln in Mieten gestützt. Der Sinn dieser Versuche war, zu untersuchen, inwieweit die Menge und Art der vorhandenen Mikroorganismen von größerer oder kleinerer Bedeutung als die physikalischen Einflüsse wäre. Das Kartoffelmaterial war „Early rose", eine Sorte, die sehr leicht fault. In jede Miete kamen 125 Stück, an Gewicht 9,25 kg. In Beziehung auf die Mikroorganismen wurden 3 Parallelreihen vorbereitet; in einer Reihe wurden die Kartoffeln mit 2 $^0/_{00}$ Sublimatlösung gebürstet und nachher 3 Stunden in dieser Lösung gelassen; die Knollen der anderen Reihe wurden tüchtig mit feuchter Gartenerde beschmiert, und die der dritten Reihe wurden mit einem Brei von Gartenerde und (durch celluloselösende Bakterien) im Thermostaten verfaulten Kartoffelscheiben eingerieben. Als äußere Einflüsse, die mit dem Einflusse der Mikroorganismen verglichen werden sollten, wurden gewählt: die Feuchtigkeit, die Wärme und die äußere Beschaffenheit der Knollen. Die verhältnismäßig trocken aufzubewahrenden Kartoffeln wurden nach den verschiedenen Abspülungen und Einreibungen erst mehrere Tage auf einem Tische zum Trocknen ausgelegt; in den Mieten wurde unten eine ca. 25 cm hohe Schicht von Steinen angebracht. Die feucht aufzubewahrenden Kartoffeln wurden nicht getrocknet; Steine wurden nicht auf den Boden der Miete gelegt, das Stroh lag vielmehr direkt auf dem Boden und mehrmals wurden die Mieten mit Wasser be-

1) Centralbl. f. Bakt. etc. 2. Abt. Bd. IV. 1898.

gossen. Der Unterschied in den Wärmeverhältnissen wurde dadurch hergestellt, daß die Hälfte der Mieten (12 Stück) im Freien, die andere Hälfte in einem tiefen Keller angebracht war. Die Temperatur im Inneren der Kellermieten schwankte nur zwischen 9,5° und 10,5°. Bei den Mieten im Freien schwankte die Temperatur natürlich mit der Außentemperatur; am 21. Dez. war das Minimum 1,5° erreicht; danach stieg die Temperatur und hatte beim Abschluß des Versuches (11. April) 7° erreicht. Die äußere Beschaffenheit der Kartoffelschale wurde dadurch variiert, daß die Hälfte der Kartoffeln mit einem Reibeisen an mehreren Stellen oberflächlich verwundet wurde. Da die im Keller liegenden Kartoffeln schon ziemlich früh austrieben, mußten diese schon am 14. Februar aufgenommen werden.

Beim Aufnehmen wurde jede Kartoffel durchschnitten; in der Tabelle sind die ausschließlich durch Bakterien angegriffenen Kartoffeln als bakterienfaul bezeichnet, die Kartoffeln, in welchen ein Pilzmycel vorhanden war, als mycelfaul. Eine botanische Bestimmung der vielen verschiedenen Mycelien fand nicht statt.

		mit $HgCl_2$ gespült		mit Erde eingerieben		mit Bakterien eingerieben		
		warm	kalt	*warm*	kalt	*warm*	kalt	
trocken	ganz	*0*	0	*1*	1	*0*	0	bakt.-faul
		0	0	*0*	1	*0*	0	mycel-faul
		0	**0**	**1**	**2**	**0**	**0**	zusammen
	verwundet	*0*	19	*0*	29	*0*	71	bakt.-faul
		0	0	*6*	42	*6*	1	mycel-faul
		0	**19**	**6**	**71**	**6**	**72**	zusammen
feucht	ganz	*0*	6	*0*	32	*0*	52	bakt.-faul
		0	0	*0*	0	*0*	4	mycel-faul
		0	**6**	**0**	**32**	**0**	**56**	zusammen
	verwundet	*0*	59	*0*	52	*0*	69	bakt.-faul
		0	0	*24*	16	*0*	0	mycel-faul
		0	**59**	**24**	**68**	**0**	**69**	zusammen

Nur 9 Kartoffeln wurden gefunden, die im Inneren dunkle Färbung zeigten, ohne von Bakterien angegriffen zu sein; dagegen waren zahlreiche Kartoffeln, die schon mehr oder weniger verfault waren, ohne jede Dunkelfärbung. Aus der Tabelle geht hervor:

Daß ein Vorhandensein großer Mengen von kartoffelangreifenden Bakterien die Naßfäule sehr begünstigt;

daß eine Infektion mit Erde allein bedeutend mehr „mycelfaule" Kartoffeln hervorbringt als eine Infektion mit bakterienreichem Brei;

daß die verwundeten Kartoffeln viel stärker gelitten haben als die unverwundeten;

daß die größere Feuchtigkeit ihren Einfluß namentlich bei den wenig angegriffenen (also bei den nicht verwundeten und bei den mit $HgCl_2$ abgespülten) gezeigt hat;

daß die warm aufbewahrten Kartoffeln auffallend wenig gelitten haben. Dies ist wahrscheinlich eine Folge des frühen Austreibens; hierdurch ist ein regerer Stoffwechsel eingetreten, und gleichzeitig sind wahrscheinlich solche Stoffe gebildet, die gegen eine Infektion schützen können. Die Disposition der ruhenden Knollen für den Angriff der Mikroorganismen scheint also bedeutend größer zu sein als die der Knollen, bei welchen die Lebensprozesse schon lebhafter vor sich gehen.

Für die Praxis haben diese Aufbewahrungsversuche nur die Bedeutung einer Bestätigung der alten Regel, daß man sauber und trocken einmieten soll, und daß man saubere, nicht verwundete Kartoffeln am besten aufbewahren kann.

Ueber Reduktion von Sulfaten in Brackwasser durch Bakterien.

Von Dr. **R. H. Saltet**, Prof. d. Hygiene a. d. Universität zu Amsterdam.

Wiewohl seit vielen Jahren bekannt ist, daß unter Einfluß der Sonnenwärme Salzwasser ärmer an Sulfaten wird, indem Schwefelwasserstoff sich entwickelt, ist die Erklärung dieser Thatsache bis jetzt noch zu geben. So zahlreich die Untersuchungen sind, angegestellt, um die Bildung von SH_2 aus Schwefel, Eiweiß etc. zu zeigen, so spärlich bietet die Litteratur etwas über die Bildung dieses Gases aus Sulfaten. Was hierüber bekannt ist, findet sich in den Verhandlungen Rubner's[1]) und Beijerinck's[2]), mit Ausnahme einer im Folgenden besprochenen Untersuchung Mulder's, welche ich kurz referieren werde.

In Amsterdam mit seinen vielen mit Brackwasser gefüllten Stadtgräben („grachten") ist die Gestankentwickelung in früheren Jahren sehr bedeutend gewesen, besonders zur warmen Jahreszeit.

Die helle Farbe, womit Fenster und Thürpfosten angestrichen waren, wurde schwarz und bisweilen zeigte sich das rote Grabenwasser, dessen Erscheinung früher anders ausgelegt wurde, jetzt aber dem Auftreten von Winogradsky's Schwefelbakterien zugeschrieben werden darf.

G. J. Mulder, damals praktischer Arzt zu Amsterdam, später Professor der Chemie an der Universität Utrecht, untersuchte diese Erscheinung meines Wissens zuerst, und zwar im Jahre 1827[3]). In seiner historischen Uebersicht teilt er mit, daß früher das Wasser, das die Stadtgräben füllte, süß gewesen sei, daß sogar Flußfische darin gefangen wurden, wovon der Ertrag der Landwehr („schutterij") zu gute gekommen sei. Im Jahre 1830 sei das Wasser noch als sehr gut bezeichnet worden.

1) Arch. f. Hyg. Bd. XVI. 1893.
2) Centralbl. f. Bakt. etc. 2. Abt. 1895. No. 1.
3) Verhandeling over de wateren en lucht der stad Amsterdam. 243 p.

Aus von der Stadtbehörde getroffenen Vorkehrungen, das Wasser der Gräben vor Verunreinigung durch Färbereien und Stärkefabriken zu schützen, da sonst dasselbe der Gesundheit schaden könnte, darf man schließen, daß es bis Anfang des 17. Jahrhunderts noch getrunken wurde und also kein bedeutendes Quantum Kochsalz enthielt. Allmählich aber trat eine Veränderung ein; die Amstel, die Wasserlösung eines großen Gebietes, welches Wasser durch die Stadtgräben in das Y, den Meerbusen, der mit der „Zuiderzee“ in Verbindung steht, fließt, führte ein kleineres Quantum Süßwasser als früher nach der Stadt, was nach Mulder dem Umstande zuzuschreiben ist, daß, je länger je weniger Rheinwasser nach der Amstel geführt wurde, und weiter dem Umstande, daß viel Torf aus dem Gebiete der Amstel gegraben worden war, so daß kleine Seen entstanden, wo früher Land gewesen war. Letztere hatten nun wiederum zum Teil andere Ausflüsse und auf diese Weise wurde das Quantum Süßwasser, das durch die Amsterdamer Stadtgräben floß, immer geringer. Dadurch konnte das salzige Y-Wasser leichter in die Stadt fließen, und dieser Zufluß von Salzwasser wurde noch vermehrt durch die Erweiterung der Verbindungen zwischen Nordsee und „Zuiderzee“, wodurch bei Flut ein bedeutendes Quantum Seewasser in die Zuiderzee und demnach auch zum Teil auch in das Y floß. Nimmt man dazu noch in Betracht, daß der Boden der Stadtgräben und der des Y vor der Stadt allmählich höher wird durch den sich ansetzenden Schlamm, so wird es klar, warum das frühere Süßwasser im Laufe der Zeit brackig wurde. Durch Schleusenbau suchte man einesteils das brackige Stadtwasser von dem süßen Amstelwasser getrennt zu halten, anderenteils das Y-Wasser, das während der Flut in die Stadt drang, durch die Gräben zu leiten, so daß bald ein Teil der Stadt, bald wieder der andere mit frischem, wenn auch salzigem Wasser versehen wurde. Dies gelang nicht mit den weit vom Hafen entfernten Gräben; die Kraft des einströmenden Flutwassers und die geringe Tiefe der Stadtgräben ließen das nicht zu. Auch konnte wegen der niedrigen Lage einiger Viertel bei höherer Flut die Einströmung des Y-Wassers wegen zu befürchtender Ueberschwemmung nicht vollständig stattfinden. Infolgedessen drang zwar während der Flut Wasser in die Stadt, in einem großen Teile der Wasserwege stand dasselbe Wasser längere Zeit still und wurde nur während der Winterzeit bei hohem Stand der Amstel entfernt. Das Resultat war, wie schon bemerkt, eine bedeutende H_2S-Entwickelung im Sommer.

Mulder untersuchte nun sowohl das Seewasser als das Y-Wasser und die Grabenwasser.

Er bestimmte darin das Chlor, den Kalk, die Magnesia, die Schwefelsäure, wies die Kohlensäure darin nach und gelangte in dieser Weise, nach der Auffassung jener Tage, zu einer vergleichenden Analyse, worin er die Soda, den Kalk, die Magnesia, welche an Cl, den Kalk und die Magnesia, welche an Schwefelsäure gebunden waren, in Grammen der Chloride, Sulfate etc. auf 1000 g Wasser angiebt. Er fand nun, indem wir seine Ergebnisse kurz fassen, in den am wenigsten durch Y-Wasser erfrischten Gräben das geringste Quantum Schwefelsäure, jedoch das größte Quantum „gezwaveld

waterstofgas", das sich durch Kochen daraus entfernen ließ, so daß essigsaures Blei keinen Niederschlag mehr gab und also in freiem Zustande darin sein mußte. Im Y-Wasser fehlte Schwefelwasserstoff; darin fand sich ebensowenig freies CO_2, was hingegen wohl und deutlich in den verunreinigten Gräben sich zeigte.

Mulder betrachtet jetzt die Ursachen dieser Veränderung. Die Vereinigung von Salz- und Süßwasser allein kann seines Erachtens nicht Zersetzung dieses Wassers verursachen, ebensowenig der Stillstand des Wassers. Vielmehr ist in dem Boden der Gräben die Ursache der Veränderung des Grabenwassers zu suchen. Enthält dieser ja auch einen Teil der Stoffe, die aus den Kloaken, aus den Häusern und in die Gräben fließen; der Straßenschmutz, die Abfälle der Fabriken geraten zum Teil in die Stadtgräben. Diese Abfälle faulen und „koolstofzuur, waterstoffig koolgas, Ammoniac, stiklucht, azijnzuur enz." entstehen dabei. Besonders der Kohlensäure ist nach ihm bei der Umsetzung des Grabenwassers eine wichtige Rolle zuzuschreiben. Sie sei imstande, die Chloride und Sulfate von Kalk und Magnesia in Karbonate zu verwandeln. Die freigewordene Schwefelsäure werde durch die Einwirkung des Methans zersetzt und bilde CO_2 und SH_2. Dieses CO_2 veranlasse wiederum weitere Zersetzung. Zur Bestätigung seiner Ansicht brachte er geruchloses Sumpfgas, das er aus einem Graben im Torfland erhalten hatte, in eine Flasche mit ein wenig Wasser aus dem Y, und nun ließ sich durch den Geruch nach einiger Zeit SH_2 nachweisen. Er löste die Salze, die er im Grabenwasser aufgefunden hatte, in verschiedenen Quantitäten im Wasser, keine von diesen Lösungen ergab Entwickelung von Schwefelwasserstoff; hingegen entwickelte sich dieses Gas, wenn er fein geschnittene Kohlblätter einer solchen Lösung zugesetzt hatte und dieses Gemenge bei mäßiger Wärme aufbewahrt wurde.

Hierüber wundern wir uns jetzt nicht mehr, da Kohlblätter auch ohne die Anwesenheit von Seewasser Schwefelwasserstoff entwickeln können, indem das darin enthaltene Eiweiß zersetzt wird. Eigentümlich ist aber die Mitteilung, daß nur schwefelsaure Magnesia die Entwickelung von SH_2 veranlasse, daß dabei kohlensaure Magnesia entstehe und daß schwefelsaurer Kalk, mit Kohlblättern und Wasser gemengt, im Gewicht abnehme, obgleich Schwefelwasserstoff sich nicht entwickle. Er weist weiter auf den stärkeren Gestank an den Mündungen der Kloake hin und stellt die Theorie der Entstehung von Gestank durch das Mengen von Salz- und Süßwasser in Abrede durch die Argumentierung, daß die Amstel nur dann Gestank entwickele, wenn viel faulendes Material aus der Stadt hineinströmt.

Für seine Behauptungen giebt Mulder nicht immer die Analysen an; aus seiner Abhandlung läßt sich aber schließen, daß er die Entwickelung von SH_2 aus einem Sulfat dem Einfluß des faulenden Materials und zwar speziell dem dabei auftretenden CH_4 zuzuschreiben berechtigt zu sein glaubt. Diese Erklärung wird heutzutage wohl wenige Anhänger finden, seine Observationen jedoch sind wohl von Bedeutung.

Die analoge Ansicht Hoppe-Seyler's, der die Reduktion von Sulfaten durch die Einwirkung von CH_4 in statu nascendi erklären

zu können glaubt, wird ebensowenig von Rubner[1]) als von Beijerinck[2]) geteilt, Mulder's Wahrnehmung jedoch, daß unter Umständen Sulfate durch Bakterienwirkung in SH_2 oder andere flüchtige Schwefelverbindungen umgesetzt werden können, kann nicht angezweifelt werden und wird durch Beijerinck's Untersuchung sehr klar bewiesen. Nicht die Thatsache, daß in dem Gemenge von Wasser aus den Stadtgräben von Delft mit Malzwürze oder sonstiger für Bakterien geeigneter Nahrung und Schlamm unter Abschluß der Luft neben der Entwickelung mehrerer in Schlamm und Grabenwasser anwesenden Bakterien Schwefelwasserstoff entsteht, sondern vielmehr die Wahrnehmung, daß dabei große Quantitäten Sulfate verloren gehen, ist das Wichtigste in seinem Werke, wodurch mit besseren Methoden die Wahrnehmungen G. J. Mulder's bestätigt wurden. Die Entstehung von Schwefelwasserstoff aus einem solchen Gemenge, worin nicht das S ausschließlich in Sulfaten, sondern auch vielleicht in anderen Verbindungen vorhanden ist, würde natürlich an und für sich nicht darthun, daß dieses Gas durch biologische Reduktion von Sulfat entstanden wäre. In seinen Untersuchungen mit Schlamm, Grabenwasser und einem Gemenge von Nahrungsstoffen und Sulfat konnte Beijerinck bisweilen konstatieren, daß alles SO_3 aus den Flüssigkeiten verschwunden war. So ging der ursprüngliche Gehalt von 121, 251, 45 mg SO_3 pro Liter bei mehreren Experimenten ganz verloren; niemals aber gelang es ihm, die entsprechende Quantität SH_2 mit der Titriermethode mit $^1/_{100}$ Normal-Jodlösung in den Flüssigkeiten wiederzufinden. Höchstens $^3/_4$ des berechneten Quantums konnte bei einigen Versuchen wiedergefunden werden.

Beijerinck sucht die Erklärung hierfür in erster Linie in unvermeidlichen Fehlern beim Nehmen der Proben für die Maßanalyse, und weiter in der Entstehung anderer Schwefelverbindungen n. l. Sulfite oder Thiosulfate, die weniger Jod fordern als das SH_2 bei einem nämlichen Quantum Schwefel und dadurch bei der Berechnung auf SH_2 des Resultats der Titrierung eine zu kleine Zahl ergeben[3]).

Die Reinkultur des „Ferments" ist Beijerinck auf die in seiner ursprünglichen Abhandlung zu lesende Weise gelungen. Es sei hier nur daran erinnert, daß er nach einer Vorkultur in einem Gärungskölbchen einen geringen Teil der Flüssigkeit, worin sich die rein anaëroben Bakterien befanden, entweder mit Gelatine oder mit sorgfältig ausgewaschener Agarlösung vermischte, er setzte nun Nährstoffe hinzu, die weder Schwefel noch irgend eine Schwefelverbindung als nur Mohr'sches Salz enthielten. In mittels Glasplatten gut von der Luft abgeschlossenen, ganz mit der erstarrten Masse gefüllten Räumen entwickelten sich dann kleine, aus Spirillen bestehende Kolonieen, die sich daran kenntlich machten, daß sie von einer Wolke von schwarzem Schwefeleisen umgeben waren.

1) l. c. p. 54.
2) l. c. p. 7.
3) l. c. p. 50. In seiner letzten Abhandlung teilt B. mit, daß er nicht mehr diese Ansicht habe.

(Schluß folgt.)

Guignardia reniformis au Caucase.

(Communication préliminaire).

Par **Alexandre Lebedeff** à Paris.

Avec une Figure.

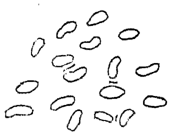
L'étude très attentive que j'ai faite de raisins reçus du Caucase atteints par les périthèces et pour partie par les pycnides du Guignardia reniformis m'a permis de trouver quelques conceptacles d'une forme caractéristique de poire avec l'ostiole au saummet très distinct et de dimensions[1]) presque identiques à celles des périthèces du Guignardia reniformis, mais remplis d'une multitude de petites spores un peu courbées de $4^1/_2$ à $5^1/_2$ μ de longueur et de $2^1/_2$ de largeur.

Les dimensions intérieures des conceptacles sont de $\frac{140}{500}$ μ et la largeur de l'ostiole est 27 μ.

Les conceptacles que j'ai examinés différent sensiblement des formes décrites jusqu'à présent, et ce qui me permet de croire qu'ils ne sont que spermogonies du Guignardia reniformis, c'est que j'ai constaté un voisinage étroit parmi ces conceptacles, les périthèces et les pycnides et une grande ressemblance entre les mycéliums par la couleur et par la forme.

Pourtant cette affirmation ne peut être prouvée définitivement que par les inoculations et les cultures directes que je me réserve de faire plus tard.

Le contenu de ces conceptacles ne présente pas une disposition radiale; on peut en attribuer la cause à l'époque avancée comme le témoigne une grande quantité ces périthèces avec des asques déjà gélifiées. En outre, d'après le résultat que j'ai obtenu à la suite d'une de mes préparations, malheureusement détruite, les spermaties ayant de courtes basides, naissent non seulement au saummet mais aussi le long des filaments.



Cette mode de développement, non plus que l'époque tardive, ne peut être favorable à la conservation de leur disposition radiale.

De sorte que la Guignardia reniformis se présente le pyrénomycète bien caractéristique par son polymorphisme. La présence de périthèces, de pycnides en même tempus que de spermogonies fait du Guignardia reniformis l'un des plus redoutables parasites de même que le Black Rot, ce dernier étant en effet doué de tous les modes de propagation et d'accommodation aux milieux les plus differents à la faculté de s'étendre dans un délai relativement court dès qu'il apparaît dans un endroit quelconque.

L'étude de la biologie du Guignardia reniformis constitue un problème urgent dont la solution appartient à un avenir très proche, car ce n'est pas en connaître la mode d'éxistence qu'on peut le combattre rationnellement.

Paris, 18. Juin 1900.

---

1) Je me réserve de faire quelques remarques sur la communication relative aux périthèces du Guignardia reniformis faite à l'Académie des Sciences par MM. Prilieux et Délacroix.

Die Monilienkrankheit oder Zweigdürre der Kernobstbäume[1].

Von **H. Müller-Thurgau.**

In den meisten schweizerischen Obstbaugegenden zeigt sich in diesem Jahre an den Apfel- und ebenso, wenn auch weniger häufig, an den Birnbäumen eine Art Zweigdürre, die den Landwirten unbekannt ist und, soweit wir in Erfahrung bringen konnten, hier noch nie in solchem Grade auftrat. Wir haben das Vorkommnis an der Versuchsstation Wädensweil einer Untersuchung unterworfen, und es sollen im Nachfolgenden die bisher erzielten Ergebnisse mitgeteilt werden:

Die ersten Krankheitsfälle wurden Ende Mai und Anfang Juni aus den verschiedensten Obstgegenden unseres Landes, aus dem St. Gallischen Rheinthale, aus den Kantonen Zürich, Baselland, Thurgau, Schaffhausen, Schwyz und Bern gemeldet und auch während des Monats Juni liefen noch weitere Sendungen aus diesen und anderen Gegenden, so aus dem Aargau und vom Vierwaldstättersee ein.

Unsere Beobachtungen ergaben folgendes Krankheitsbild: Gewöhnlich zeigten sich nur vereinzelte Bäume erkrankt, während die umstehenden gesund sind, so daß man, obgleich die Gesamtzahl der kranken Bäume beträchtlich ist, von einer allgemeinen Erkrankung nicht reden kann. Diese richtet sich nicht streng nach den Sorten; doch fällt auf, daß unter den Apfelbäumen besonders Charlamowsky, Sommergewürzapfel (Jakobsapfel), Kaiser Alexander und Weißer Astrachan häufig als erkrankt gemeldet werden.

Bald nach der Blütezeit begann ziemlich gleichzeitig eine Anzahl Zweige zu welken, um dann in kurzer Zeit vollständig zu verdorren; bei manchen Bäumen waren es verhältnismäßig wenige, bei anderen mehr, bis etwa zur Hälfte sämtlicher Zweige. Hauptsächlich werden die blütentragenden Seitentriebe, Kurztriebe betroffen. An einem Aste findet man anfangs häufig die Endtriebe der Hauptzweige gesund, während von den Nebentrieben gesunde und kranke ohne bestimmte Regel durcheinander stehen. Oft sind sämtliche Nebentriebe erkrankt, oft alle gesund bis auf einen oder wenige, etc.

Soweit aus den Mitteilungen und Beobachtungen geschlossen werden kann, fand die Infektion schon um die Zeit der Blüte oder vielleicht noch früher statt, was auch daraus hervorgeht, daß an den abgestorbenen Zweigen sich verwelkte Blüten oder vertrocknete, kleine, kaum aus der Blüte getretene Früchte vorfinden. Doch können wahrscheinlich auch später noch Infektionen stattgefunden haben;

---

1) Die Bezeichnung Monilienkrankheit verdient den Vorzug, da Zweigdürre auch die Folge anderer Krankheiten sein kann.

denn an einigen wenigen der vom Pilze direkt zum Absterben gebrachten Seitenzweige fanden sich ziemlich ausgebildete Früchte von 2—3 cm Durchmesser. Es ist jedoch nicht ausgeschlossen, daß sich der Pilz hier langsamer entwickelte und daher den Zweig später abgetötet hat, als in den anderen Fällen.

Als den die Krankheit verursachenden Organismus konnten wir in allen Fällen Monilia fructigena, den sogenannten Polsterschimmel, feststellen, jenen Pilz, der bekanntermaßen in verschiedenen Früchten, sowohl in abgefallenen als noch am Baume hängenden, eine charakteristische Fäulnis verursacht.

Die befallenen Zweige selbst sind von diesem Pilze gewöhnlich vollständig durchwuchert, wobei er durch Austrocknen oder aus anderen Gründen entstandene Höhlungen mit einem weißen, filzartigen Gewebe ausfüllt. Sowohl Rinde als auch Holz und Mark zeigen sich von den Pilzfäden nach allen Richtungen durchwachsen. In Rinde und Mark ist das Mycelium oft so stark entwickelt, daß es auf Längsschnitten mit unbewaffnetem Auge gesehen werden kann. Ebenso pflegt es zwischen Rinde und Holz eine kräftige Ausbildung zu erlangen. Häufig tritt es sogar aus kürzeren oder längeren Längsrissen der Rinde als weiße Masse hervor und bildet dann an der Zweigoberfläche über den Spalten die charakteristischen polsterartigen Sporenanhäufungen. Doch tritt der Pilz nicht nur an diesen Stellen sporenbildend zu Tage, sondern oft auch an den, allerdings nur wenig entwickelten, abgestorbenen Früchten der erkrankten Zweige, was wir sowohl an Birnen als an Aepfeln beobachten konnten.

Außerordentlich rasch findet offenbar die Ausbreitung des Pilzes in den einmal angesteckten Zweigen statt. Darauf weist schon das ziemlich gleichzeitig stattfindende plötzliche Verdorren hin; man kann sich aber leicht auch durch direkte Beobachtung davon überzeugen, indem das Vorwärtsdringen des Pilzes an der äußerlichen Verfärbung der Zweige zu erkennen ist. Die Rinde wird zuerst dunkler, sinkt dann ein, worauf sich an den glatten Stellen oft, jedoch nicht immer, die Oberhaut (eine mehrschichtige Epidermis) als rotgefärbte, dünne Haut loslöst.

Gar nicht selten läßt sich nun beobachten, wie von einem erkrankten Seitenzweige aus der Pilz in den Hauptzweig vordringt, auch hier Rinde und Holz bald auf eine gewisse Ausdehnung hin tötend. Dadurch wird die Leitung des Wassers im Hauptzweige unterbrochen und alle über der erkrankten Stelle sitzenden Seitenzweige sowie auch der Endtrieb müssen dann selbstverständlich verdorren. In diesen sozusagen vom Pilze indirekt getöteten Zweigen findet sich dieser natürlich nicht vor, dagegen ist auch mit bloßem Auge leicht zu erkennen, an welcher Stelle der Haupttrieb vom Pilze ergriffen wurde, und so dessen Absterben leicht zu erklären. Dieses Vorkommnis hat dann äußerlich einige Aehnlichkeit mit der durch den Krebspilz (Nectria ditissima) verursachten Gipfeldürre der Obstbäume.

Die im Vorigen beschriebene Krankheit ist übrigens nicht neu; ich konnte an mehreren Apfelbäumen bei Wädensweil schon im Jahre 1898 vereinzelte, von Monilia getötete Zweige auffinden.

Wehmer[1]) erwähnt das gelegentliche Auftreten der Monilienkrankheit an Birn- und Apfelbäumen in Hannover. Auch Frank[2]) führt in seiner, namentlich auf das Auftreten auf Kirschbäumen sich beziehenden Arbeit über die Monilienkrankheit an, daß diese zwar in Norddeutschland eine spezifische Erscheinung der Sauerkirschbäume sei, gelegentlich aber von diesen auch auf Apfelbäume übergehe. Von einem epidemischen, von Kirschbäumen durchaus unabhängigen Auftreten der Monilienkrankheit an Apfel- und Birnbäumen in Europa wurde aber bisher nicht berichtet[3]).

Es liegt nahe, die Frage aufzuwerfen, warum an unseren Kernobstbäumen nun auf einmal eine solche Krankheit gewissermaßen epidemisch auftritt, während doch der Pilz schon lange da ist? Bisher machte er sich nach den angestellten Beobachtungen in der Schweiz nur dadurch bemerkbar, daß er eine Art Fruchtfäule an Kern- und Steinobst verursachte, wobei die befallenen, mit zahlreichen weißlichen bis gelblich-grau gefärbten Sporenpolstern besetzten Früchte häufig bis in den Winter als eingeschrumpfte Mumien an den Bäumen bleiben. Es lassen sich über eine derartige Aenderung im Verhalten eines Pilzes allerlei Mutmaßungen aussprechen, etwas Sicheres wissen wir aber nicht. So wird von Einigen angenommen, ungünstige Frühjahrswitterung könne die Ursache plötzlich auftauchender Epidemieen sein; allein das würde gerade für dieses den Obstbäumen so günstige Frühjahr nicht wohl zutreffen. Von anderer Seite und namentlich auch von Frank hinsichtlich der Monilienkrankheit der Kirschbäume wurde auch schon die Vermutung ausgesprochen, solche Pilze könnten mit der Zeit gewissermaßen ihre Natur ändern und aus unschuldigen Fäulnispilzen oder Saprophyten durch allmähliche Anpassung zu gefährlichen Schmarotzern werden. Unwillkürlich wird man sich jedoch hierbei fragen, warum geschieht das erst jetzt und so plötzlich; die Pilze hatten hierzu doch schon lange Gelegenheit?

Meines Erachtens sind sowohl Monilia wie auch der mit ihr nahe verwandte Traubenschimmel (Botrytis cinerea) in ihrer Bedeutung als Pflanzenschädlinge bisher vielfach unterschätzt worden, und es dürften schon früher ähnliche Massenerkrankungen der Obstbäume durch sie hervorgerufen worden sein, ohne daß man allerdings damals die Ursache erkannte und registrierte. Beide Pilze sind zwar für gewöhnlich in absterbenden oder toten Pflanzenteilen lebende Saprophyten und häufig auch Wundparasiten, indem sie durch Wunden in lebende Pflanzenteile, wie z. B. in Obstfrüchte, einzudringen vermögen; allein schon in dem letzteren Falle zeigt sich, mit welcher Energie sie sich, einmal in Pflanzengewebe gelangt, daselbst ausbreiten, alles Leben vor sich her vernichtend. Solchen Pilzen gegenüber genügt schon eine geringe Schwächung des Organismus, um ihnen das Eindringen auch ohne Wunde zu ermöglichen, wie ich dies zuerst für den Traubenschimmel bei Traubenstielen und jungen

1) Bericht d. dtsch. bot. Gesellsch. 1898. p. 302.

2) Dr. H. Thiel's landw. Jahrbücher. 1899. p. 202.

3) Nach Halstedt (Report of the botanical Depart. of the New Jersey Agricultural College Experiment Station. 1894) sind daselbst die Birnbäume schon stark von Monilia befallen worden.

Rebentrieben [1]) sowie bei unreifen Traubenbeeren [2]) nachgewiesen habe. Es ist daher wohl begreiflich, daß da, wo sich viele Sporen der Monilia vorfinden, wo man nämlich versäumt, die durch diesen Pilz zur Fäulnis gebrachten, abgefallenen oder am Baume hängen bleibenden Früchte zu sammeln und zu vernichten, leicht einzelne verletzte oder aus lokalen Ursachen geschwächte Zweige befallen werden, wie dies von mir in früheren Jahren beobachtet wurde. Um jedoch das Zustandekommen des diesjährigen epidemischen Auftretens auf diese Weise zu erklären, wäre nachzuweisen, daß an den betroffenen Apfel- und Birnbäumen ein großer Teil der jungen Triebe irgend eine Schwächung erlitten hat. Einen absolut sicheren Nachweis dafür zu erbringen, daß gerade die von Monilia befallenen Zweige geschwächt wurden, ist jetzt nachträglich kaum möglich, doch möchte ich auf meine Arbeit über „Eigentümliche Frostschäden an Obstbäumen und Reben" hinweisen [3]), wo gezeigt wurde, daß in den kalten Nächten Anfangs März an zahlreichen Obstbäumen in den Zweigen, namentlich in den Fruchtknospen tragenden Kurztrieben, das Mark direkt unter den Knospen erfror. Schon zeigten letztere zu dieser Zeit eine beträchtliche Anschwellung. Die zum Wachstum ihrer inneren Teile erforderlich gewesene organische Substanz wurde vorzugsweise der nächstliegenden Markpartie entnommen, so daß diese auf eine kurze Strecke stärkefrei war und gerade diese Partie des Markes erlag den damals eintretenden Kältegraden von —16 bis 19° C. Ebenso erwies sich oft das angrenzende Holz beschädigt, während die Rinde meist unverletzt zu sein schien. Manche dieser so verletzten Triebe brachten die endständige Fruchtknospe nicht weiter zum Austrieb, sondern höchstens eine tieferstehende kleine. Bei vielen war das Wachstum schwächlich und die austreibenden Blätter und Blüten verwelkten bald; manche aber vermochten die Beschädigung allmählich zu überwinden und sich normal zu entwickeln. Ohne Zweifel waren außer der Größe des Frostschadens noch andere Umstände für das weitere Verhalten entscheidend, so z. B. die Witterung und andererseits wohl auch der Umstand, ob Sporen gefährlicher Pilze, wie Monilia, während der kritischen Zeit sich auf den betreffenden Zweigen vorfanden oder nicht.

Wenn ich im Vorstehenden die diesjährige epidemische Monilienkrankheit in der Schweiz mit den durch die Kälte der ersten Märztage verursachten Frostschäden in Zusammenhang zu bringen versuche, so möchte ich doch selbst hervorheben, daß ein unanfechtbarer Beweis nicht vorliegt und auch schwer zu erbringen ist. Immerhin konnten wenigstens bei manchen von Monilia befallenen Zweigen die Spuren des Frostschadens noch erkannt werden. Das Verhalten der Bäume im nächsten Jahre wird, sofern kein Frostschaden eintritt, noch weiteren Aufschluß geben können. Allerdings ist dann nicht zu übersehen, daß in den einmal befallenen Zweigen der Pilz voraus-

1) Botrytis und Peronospora als Schädiger der Gescheine und jungen Früchte des Weinstockes. (Weinbau und Weinhandel. 1888. p. 256 ff.)

2) Die Edelfäule der Trauben. (Landw. Jahrb. 1888. p. 87 f.)

3) Schweiz. Zeitschr. f. Obst- u. Weinbau. 1900. p. 193.

sichtlich erhalten bleibt und weiter schädigend wirken wird, es sei denn, daß man die ergriffenen Zweige auf das gesunde Holz zurückschneidet. Ist die diesjährige ausgebreitete Krankheit eine Folge des Märzfrostes, dann wird sie nächstes Jahr wohl auf die jetzt befallenen Bäume beschränkt bleiben. Beruhte sie dagegen auf einer Aenderung des Charakters der Monilia, darauf, daß dieser Pilz jetzt imstande wäre, gesunde Bäume anzugreifen, so würden wir in den nächsten Jahren wohl eine weitere Ausbreitung der Krankheit beobachten.

Es bedarf indes meiner Ansicht nach zum Zustandekommen einer Monilia-Epidemie nicht gerade einer Schädigung durch Frost; eine auf andere Weise entstandene Schwächung der Triebe kann unter Umständen dieselben Folgen haben. Sei nun aber die Ursache des epidemischen Auftretens der Monilia welche sie wolle, auf alle Fälle wird der Landwirt gut thun, seine Bäume nach Möglichkeit zu schützen, und zwar durch zwei sehr naheliegende naturgemäße Mittel.

An den befallenen Bäumen sind die erkrankten Zweige bis auf die gesunden Partieen zurückzuschneiden, um die Ueberwinterung des Pilzes in denselben zu verhindern; denn nicht allein kann sich dieser sonst im Frühjahr weiter ausbreiten und gesunde Partieen angreifen, sondern zudem noch Sporen erzeugen.

Vor allem müssen die auch an sonst gesunden Bäumen ziemlich häufig vorkommenden, von Monilia zum Faulen gebrachten Früchte, die ja an den weißlichen bis gelblich-grauen Sporenhäufchen leicht kenntlich sind, sowohl auf dem Boden als auch bei der Obsternte am Baume gesammelt und vernichtet werden, indem man sie z. B. verbrennt oder in eine Grube im Boden wirft und mit Erde zudeckt. In solchen Früchten vermag nämlich der Pilz ebenfalls zu überwintern und kann im Frühjahr neue Sporen bilden, die dann eventuell vorhandenen geschwächten Trieben gefährlich sein können, und zwar in besonders hohem Grade, wenn solche mumienartig eingeschrumpften Früchte zu dieser Zeit noch an den Zweigen hängen. Selbst geschwächte oder verletzte Zweige werden vor der Monilienkrankheit natürlich bewahrt bleiben und sich eher erholen können, wenn keine Sporen zugegen sind.

6. Juli 1900.

Nachdruck verboten.

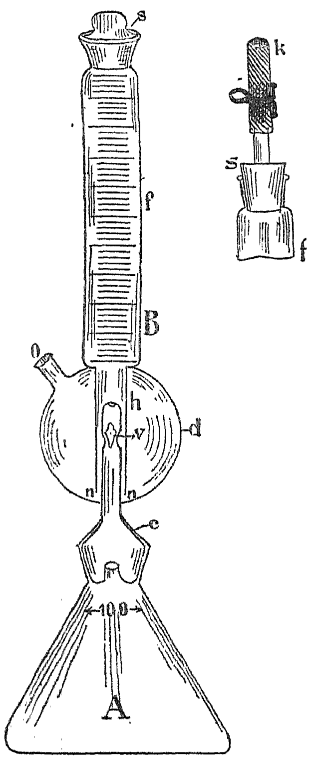
Ein neuer Gärapparat zur Prüfung der Milch auf ihre Brauchbarkeit zur Käsefabrikation, auch für aërobe Kultur von Bakterien.

Von Dr. **Stanislaus Epstein.**

[Aus dem hygienischen Institut der deutschen Universität Prag (Vorstand: Prof. Hueppe).]

Mit einer Figur.

Derselbe besteht aus zwei Teilen, einem Gefäß *A*, welches zur Aufnahme der Milch oder irgend einer Nährlösung bestimmt ist, und *B*, welches zur Aufnahme der entstandenen Gase dient. *B* besteht aus einem Eudiometer *f*, dessen Verlängerung fast bis zum Boden der Glaskugel *d* reicht. In der Verlängerung des Eudiometers *h* befindet sich eine Röhre, welche das Ventil *v* trägt. Vor der Benützung wird *A* sterilisiert oder, wie bei den Molkereien üblich, mit Säure ausgewaschen, einige Male mit Milch ausgespült und endlich mit der zu untersuchenden Milch bis zur Marke *100* gefüllt. Das Eudiometer *f* wird auf diese Weise gefüllt, daß man durch die Oeffnung *o* Wasser bis *n* (unterer Teil des Eudiometers) füllt, darauf entfernt man den Stöpsel *s* der Bürette *f*, schließt die Oeffnung *o* mit dem Finger, füllt das Eudiometer *f* voll mit Wasser, setzt dann den Glasstöpsel auf und entfernt den Finger. Es ist gut, den Rand des Eudiometers dort, wo der Glasstöpsel *s* hineingeschoben wird, mit Vaseline zu bestreichen. Ist der Teil *B* auf diese Weise gefüllt, so wird der untere Stöpsel *c* vorsichtig abgeflammt und in das Kölbchen *A* vorsichtig hineingeschoben. Die später entstehenden Gase heben das Ventil *v* und entweichen in das Eudiometer. Will man die Gase chemisch untersuchen, so entfernt man den Glasstöpsel *s* und setzt an seine Stelle einen einfach durchbohrten Kautschukstöpsel *G* (Nebenzeichnung), welcher mit einer Klemmschraube verschlossen wird. Will man nun die angesammelten Gase in ein anderes Gefäß



überführen, so verbindet man die Oeffnung *o* der Glaskugel mit einem Schlauch. Durch Eingießen von Wasser, von einer größeren Höhe als die des Eudiometers in die Kugel *d*, wird das Gas durch die Oeffnung *k* des Kautschukschlauches ausgepreßt. Es ist angezeigt, den Kolben *A* auf die Temperatur zu erwärmen, bei welcher der Versuch ausgeführt wird, am einfachsten, indem man denselben gefüllt und geimpft auf einige Minuten in den Brütschrank oder in entsprechend warmes Wasser stellt.

Der Alleinvertrieb des gesetzlich geschützten Apparates ist der Fabrik chemischer und bakteriologischer Apparate, Dr. Peters & Rost, in Berlin übertragen.

Referate.

Wager H., The sexuality of the fungi. (Annals of Botany. Vol. XIII. 1899. No. 52. p. 575—597.)

Die Arbeit beginnt mit einer Uebersicht über den Stand unseres Wissens in dieser Frage.

Bei Peronosporeen ist Verschmelzung der Kerne sicher beobachtet worden, z. B. bei Cystopus candidus, C. Portulacae, Peronospora Ficariae, parasitica u. a. m.

Bei den Saprolegnieen dagegen ist zwar das Auswachsen des Antheridiumschlauches sicher beobachtet worden, aber wie es mit der Verschmelzung der Kerne steht, bedarf noch eingehenderer Studien. Die endgiltige Natur des Befruchtungsprozesses ist also bei den Saprolegnieen noch nicht festgestellt.

Von den Chytridineen ist die Verschmelzung der Kerne bei Polyphagus Euglenae sichergestellt.

Unter den Mucorineen ist bezüglich dieser Punkte besonders Sporodinia grandis genauer untersucht. Verschmelzung findet sicher statt, nur ist man sich über die Natur der Kopulationsprodukte noch nicht ganz im Klaren.

Unter den Entomophthoreen findet bei Basidiobolus Verschmelzung statt, wenn auch diese Verschmelzung ziemlich spät erfolgt. Indessen kennt man derartige Fälle auch bei anderen Pflanzen. In Summa sieht man also, daß bei den Phycomyceten unsere Kenntnisse über den Geschlechtsakt ziemlich geklärt sind; neuere Forschungen dürften die Reduktion der Chromosomen und das eventuelle Auffinden von Centrosomen zum Gegenstand wählen.

Bei den höheren Pilzen finden, wie wir seit den Untersuchungen Dangeard's wissen, vielfach Kernverschmelzungen in ein und derselben Zelle statt. Während Dangeard diesen Verschmelzungen den Charakter echter Geschlechtlichkeit beilegt, ist Wager der Ansicht, daß sie nicht als morphologisch geschlechtlich zu deuten seien, sondern den Geschlechtsakt nur ersetzen und ihm physiologisch äquivalent seien. Klebs spricht in seiner neuesten Arbeit die Ansicht aus, daß zu einem Geschlechtsakt doch mindestens 2 vorher getrennte

selbständige Zellen nötig seien, deren Inhalte mit Hilfe besonderer Einrichtungen verschmelzen.

Wager fügt seinen Erörterungen hinzu: „Daß diese Verschmelzung nicht rein vegetativ und etwa bloß von geringer Bedeutung sei, wird durch die Thatsache bewiesen, daß die Verschmelzung nicht nur allgemein bei allen Gruppen der höheren Pilze vorkommt, sondern sich auch in einem bestimmten Lebensabschnitt des Individuums findet und zwar in einer Periode, welche der Sporenbildung unmittelbar vorausgeht.“ Kolkwitz (Berlin).

Richter, L., Zur Frage der Stickstoffernährung der Pflanzen. (Landwirtschaftl. Versuchsstationen. Bd. LI. 1899. p. 221—241.)

Die Frage, ob auch Pflanzen, welche der typischen Wurzelknöllchen entbehren, den freien Stickstoff der Luft zum Aufbau ihrer Leibessubstanz zu verwerten vermögen, muß heute noch als eine offene angesehen werden. Die Versuchsstation Tharand hatte bereits früher Stellung zu dieser Frage genommen, indem sie sich in einer kurzen Mitteilung (Landwirtschaftl. Versuchsstation. Bd. XLV. p. 155) dahin äußerte, daß nichtknöllchenbesitzenden Pflanzen die Fähigkeit, den Luftstickstoff direkt zu verarbeiten, abzusprechen sei, daß aber bei der Kultur solcher Pflanzen auf indirektem Wege ebenfalls eine Nutzbarmachung des atmosphärischen Stickstoffes stattfinden könne, indem wahrscheinlich unter geeigneten Umständen gewisse Bodenorganismen die Rolle von Stickstoffsammlern übernehmen. Es ergiebt sich in solchen Fällen, daß der Boden nach der Ernte eine größere Menge Stickstoff enthält, als man gemäß der in der Erntesubstanz enthaltenen Stickstoffmenge erwarten durfte.

Den Versuchen lag die Idee zu Grunde, das Verhalten von Leguminosen und Nichtleguminosen bei künstlicher, durch mehrere Ernten herbeizuführender Erschöpfung des Bodenstickstoffes zu studieren.

Als Versuchspflanzen dienten Pisum sativum, Polygonum Fagopyrum, Avena sativa und Sinapis alba. Das Nährmedium bestand aus einem Gemisch von 3600 g Sand und 1200 g Erde pro Topf, welchem 5 g dreibasisch phosphorsaures Calcium, 0,5 g Chlorkalium, 0,4 g schwefelsaures Magnesium und 0,4 g Monokaliumphosphat beigemengt wurden. Für jede Pflanzenart waren 15 Gefäße vorgesehen, von welchen ein Teil sterilisiert wurde. Die nicht sterilisierten wurden geimpft, ebenso ein Teil der sterilisierten. Zur Impfung diente ein wässeriger Bodenauszug. Einige Gefäße sollten nur eine Aussaat erhalten und bis zur völligen Abreifung stehen bleiben, bei den anderen beabsichtigte man im Laufe des Sommers 3 Ernten auszuführen. Die Gefäße erhielten je 15 Samen. Die Aussaaten erfolgten am 8. Mai, 7. Juli, 21. August, geerntet wurde am 27. Juni, 18. August und 2. November. Vor der zweiten und dritten Aussaat erhielt jedes Gefäß nochmals eine Mineraldüngung, bestehend aus 0,5 g KCl, 0,4 g $MgSO_4$ und 0,4 g KH_2PO_4. Eine Versuchsreihe der Gefäße erhielten außerdem noch je 500 mg N in Form von salpetersaurem Kalk.

Der durchschnittliche Stand der Pflanzen zur Zeit der ersten, zweiten und dritten Ernte wurde durch je eine photographische Aufnahme festgehalten. Die Bilder zeigten deutlich, daß nur die Erbse, nicht aber die anderen Versuchspflanzen befähigt sind, den freien Stickstoff der Luft direkt für sich nutzbar zu machen. Während die Erbsen bei der zweiten und dritten Ernte noch ausgiebige Mengen an Trockensubstanz und Stickstoff lieferten, verminderten sich die Erntemengen bei den 3 Nichtleguminosen in dem Maße, wie der im Boden befindliche assimilierbare Stickstoff abnahm.

Daß aber trotzdem auch bei Nichtleguminosen eine Stickstoffanreicherung im Boden vor sich gehen kann, zeigen die in den Tabellen zusammengestellten Resultate der Stickstoffbilanzbestimmungen.

Aus denselben ist zu ersehen:

1) daß sämtliche unsterilisierten, nicht mit Stickstoff gedüngten Gefäße einen Gewinn an Stickstoff aufweisen. Derselbe ist bei der ersten Ernte noch sehr gering, wird aber später erheblicher;

2) daß überall da, wo mit Stickstoff gedüngt wurde, ein Verlust an Stickstoff eingetreten ist.

Eine Stickstoffbindung im Boden erfolgt also nur dann, wenn sich Mangel an assimilierbarem Stickstoff zu zeigen beginnt. Ist löslicher Stickstoff im Ueberschuß vorhanden, so unterbleibt nicht nur eine Vermehrung des Stickstoffkapitals, sondern es treten sogar erhebliche Stickstoffverluste auf.

Die Versuche des folgenden Jahres, welche mit Haferpflanzen allein ausgeführt wurden, bestätigten die Richtigkeit der im Vorjahre gemachten Beobachtung, daß reichliche Mengen assimilierbaren Stickstoffes die Stickstoffbindung im Boden vereiteln. Außerdem wurde festgestellt, daß auch organische Stickstoffverbindungen, wie z. B. Asparagin, dieselbe Wirkung ausüben. Auch wurde die Frage in Betracht gezogen, inwieweit Algen bei der Stickstoffbindung im Boden beteiligt sind. Bezüglich dieser Frage bekam Verf. nur bei den nicht mit Stickstoff gedüngten Vergleichstöpfen ohne Pflanzen ein deutliches Bild. Das belichtete Gefäß zeigte ein Plus von 73 mg, das verdunkelte ein Minus von 23 mg Stickstoff. Die Regellosigkeit der Ergebnisse bei den mit Pflanzen bewachsenen belichteten, bezw. verdunkelten Töpfen beweist, daß durch die Vegetation der Pflanzen eine Modifizierung der Verhältnisse herbeigeführt wird.

Reinmann (Hildesheim).

Beijerinck, M. W., Sur la production de quinone par le Streptothrix chromogena et la biologie de ce microbe. (Archives Néerlandaises d. Sc. exactes et naturelles. La Haye 1900. Sér. III. T. III. p. 327—340.)

Die beiden vom Verf. studierten Pilze, Streptothrix alba n. sp. und Str. chromogena Gasperini sind im Boden außerordentlich reichlich und weit verbreitet. In Gartenerde sind sie bis zu 1 m Tiefe anzutreffen, im Dünensand gehen sie 2 m tief, im Flußschlamm sogar 3 m unter die Wasseroberfläche.

Ihr bevorzugter Standort sind die Wurzeln der höheren Pflanzen und deren nächste Umgebung. Untersuchungen an Quercus,

Fagus, Ulmus, Alnus, Corylus und an verschiedenen Farnen führten Verf. zu der Ueberzeugung, daß die genannten Pilze auf den abgestorbenen Zellen der Wurzeln — vorzugsweise den Korkzellen — sich heimisch machen und daselbst ein saprophytisches Dasein führen. — Eine Symbiose zwischen ihnen und den höheren Pflanzen scheint nicht zu bestehen; gleichwohl ist die Wirksamkeit der Pilze offenbar von Nutzen für die im Boden wurzelnden Pflanzen. Vor allem wird in Rechnung zu ziehen sein, daß der von den Pilzen ausgeschiedene „Sauerstoffträger" Quinon durch die schnelle Oxydation abgestorbener Pflanzenteile ihnen möglich macht, den Prozeß der „Humifikation" wesentlich zu beeinflussen. — Auch als Stickstoffsammler dürften die Pilze in Frage kommen, da sie N in jeder beliebigen Verbindung aus stark verdünnten Lösungen aufzunehmen und zu verwerten imstande sind. Küster (Halle a. S.).

Wilfarth, H. u. Wimmer, G., Die Bekämpfung des Wurzelbrandes der Rüben durch Samenbeizung. [Mitteil. der landw. Versuchsstation Bernburg.] (Zeitschr. d. Vereins d. dtsch. Zuckerindustrie. Lieferung 529. p. 159—173.)

Zur Zeit ist der Begriff Wurzelbrand der Rüben durchaus noch nicht scharf umgrenzt, man versteht vielmehr darunter Krankheitsbilder, die in ihrem Verlaufe zwar eine gewisse Aehnlichkeit haben, aber auf ganz verschiedene Ursachen zurückzuführen sind. In der vorliegenden Untersuchung gehen Verff. nur auf diejenigen Formen des Wurzelbrandes ein, die durch die Samen übertragen werden, also auf Pilze oder Bakterien zurückzuführen sind. Schon früher hatten Versuche gezeigt, daß mit einer 1-proz. Karbolsäurelösung der Wurzelbrand sicher beseitigt werden kann und daß schon eine $^1/_2$-proz. Lösung die Infektionsgefahr so weit herabsetzt, daß sie praktisch kaum noch in Frage kommt. Letzeres ist besonders deshalb wichtig, als die 1-proz. Karbolsäure eine Beeinträchtigung der Keimenergie im Gefolge hat. Von diesen Gesichtspunkten aus wurden nun Feldversuche angestellt mit Samen, die mit $^1/_2$-proz. und 1-proz. Karbolsäure gebeizt worden waren; dabei war ein Teil der mit 1-proz. Karbolsäure gebeizten Samen nach der Beizung 2 Stunden lang mit Wasser ausgewaschen worden. Es ergab sich bei 2 Versuchen, daß ungebeizte Samen 50 resp. 68 Proz., mit 1-proz. Karbolsäure gebeizte 96 resp. 95 Proz., ebensolche mit Wasser nachgewaschene 90 resp. 96 Proz. und mit $^1/_2$-proz. Karbolsäure behandelte 87 resp. 94 Proz. gesunde Pflanzen ergaben, der Rest war mehr oder weniger erkrankt. Es geht hieraus deutlich hervor, daß der Wurzelbrand, soweit er vom Samen ausgeht, durch eine Beizung desselben mit Karbolsäure fast ganz verhindert werden kann.

Daß trotz dieser günstigen Resultate Mißerfolge mit Karbolsäurebeizung eingetreten sind, kann seinen Grund in verschiedenen Ursachen haben; so in der Beschaffenheit der angewendeten Karbolsäure, die nur zu gebrauchen ist, wenn sie völlig wasserlöslich ist; im unrichtigen, die Keimkraft verringernden Trocknen; endlich aber kann auch die Infektion vom Boden ausgehen. In letzterem Falle hat Verf. die Beobachtung gemacht, daß ein Zusatz von Torf in

einer Reihe von Fällen ein stärkeres Auftreten der Krankheit veranlaßt, daß dagegen eine Kalkung des Bodens den Wurzelbrand einschränken kann.

In einem Schlußkapitel wägen Verff. die einzelnen Methoden in ihrer Anwendbarkeit für die große Praxis gegeneinander ab, wobei sie zu dem Schlusse kommen, daß die Beizung des Rübensamens mit $^1/_2$-proz. Karbolsäurelösung die geeignetste Methode darstellt.

Appel (Charlottenburg).

Garman, H., The elms and their diseases. (Kentucky Stat. Bull. LXXXIV. p. 51—75. Pls. 13.)

Seit 1892 wurde eine ernste Krankheit bei den Ulmen in Kentucky beobachtet. Das erste Zeichen derselben ist Abfallen der Blätter vom Gipfel der Bäume, bis endlich alle Blätter abfallen. Im August wurden 2 Ulmen, welche angegriffen wurden, ausgegraben und auf die Ursachen der Krankheit hin untersucht. Unter der Rinde hat Verf. Maden von Magdalis armacollis, Saperda tridentata und erwachsene Hylesinus opaculus gefunden.

Verf. glaubt jedoch, daß diese Insekten nicht die primären Ursachen des Absterbens der Bäume seien, sondern daß vielmehr die Ulmen die Nahrungsstoffe des Bodens erschöpft haben. Die Ulmenwurzeln dringen bekanntlich nicht tief in den Boden ein und sind den Witterungseinflüssen stark ausgesetzt.

Die vom Verf. vorgeschlagenen Heilmittel sind solche, die geeignet sind, die Fruchtbarkeit des Bodens wiederherzustellen und der zu raschen Ausdünstung des Bodenwassers vorzubeugen. Dem Verf. nach ist Galerucella luteola ein wichtiger Feind der englischen Ulmen in Kentucky geworden. Die amerikanische Ulme aber scheint sich einer fast vollständigen Immunität gegen die Angriffe dieses Käfers zu erfreuen. Als Heilmittel gegen Galerucella empfiehlt Verf. Bespritzung mit Pariser Grün- oder Bleiarsenatlösungen im Frühling, sobald die Blätter sich zeigen. Den Schluß bilden Notizen über Gewohnheiten und Schädlichkeit von Canarsia ulmiarrosorella und Hylesinus opaculus.

E. V. Wilcox (Washington).

Zimmermann, A., De Nematoden der Koffiewortels. II. — De Kanker (Rostrellaziekte) van Coffea arabica. (Mededeelingen uit s'Lands Plantentuin. XXXVII. Batavia 1900.)

Schon vor 2 Jahren hat Zimmermann eine ausführliche Untersuchung über die Nematodenkrankheit des Kaffees veröffentlicht[1]) und dort nachgewiesen, daß am häufigsten eine Tylenchus coffeae genannte Art die Wurzeln befällt und die Krankheit verursacht. Die erste der beiden hier vorliegenden Mitteilungen enthält die Resultate weiterer Studien über Nematoden in Kaffeewurzeln.

Heterodera radicicola vermochte Zimmermann auf Java nicht in Kaffeewurzeln aufzufinden, obwohl sie in anderen Pro-

1) Vgl. Centralbl. f. Bakt. etc. 2. Abt. Bd. V. 1899. p. 415.

duktionsgebieten (Brasilien) Aelchenkrankheiten am Kaffee verursacht hat, auch von Soltwedel 1889 in Kaffeewurzeln auf Java bereits gefunden ist und an anderen wildwachsenden und kultivierten Gewächsen auf Java nicht selten vorkommt. Selbst die Uebertragung der Heterodera von Coleus auf Kaffee gelang dem Verf. nicht. Auf Pflanzungen, wo Soltwedel die Heterodera-Krankheit gefunden hatte, waren die Wurzeln bei der Untersuchung durch den Verf. frei von Anschwellungen; nur an einer Stelle wurde Tylenchus acutocaudatus gefunden. Da eine Verwechslung von Heterodera mit Tylenchus ausgeschlossen ist, so scheint zur Zeit der Javakaffee immun gegen die erstere zu sein.

Noack beschrieb aus Brasilien eine Kaffeekrankheit, die nach ihm durch eine Nematode der Gattung Aphelenchus hervorgerufen wird[1]). Auch Zimmermann fand nach seiner ersten Mitteilung einen Aphelenchus coffeae in Kaffeewurzeln auf Java, stets aber in geringer Menge und zusammen mit Tylenchus coffeae und acutocaudatus, also als unschädlichen Saprophyten. Ob der Aphelenchus coffeae Noack mit dem A. coffeae Zn. identisch ist, muß unentschieden bleiben, da Noack seine Art noch nicht genauer beschrieben hat.

Schon in der ersten Mitteilung hatte Zimmermann das Vorkommen des Tylenchus acutocaudatus in Kaffeewurzeln erwähnt, indes damals den T. coffeae als Hauptschädling betrachtet. Inzwischen aber hat sich auf gewissen Unternehmungen der erstere ausschließlich gefunden. Die von ihm erzeugten Anschwellungen der Wurzeln unterscheiden sich von den durch T. coffeae erzeugten durch knorrige Verdickungen. Infektionsversuche zeigten, daß diese Aelchenart für den Kaffeebaum ebenso schädlich ist wie die andere. Nachdem in der ersten Mitteilung nur das Weibchen von T. acutocaudatus beschrieben war, wird hier die Beschreibung der männlichen Tiere, der Larven und der Eier nachgetragen.

Der vierte Abschnitt giebt eine Statistik der durch Wurzelälchen verursachten Schädigungen des Tabakbaues auf Java, aus der trotz ihrer Mängel hervorgeht, daß dieselben bis 1898 und auch in diesem Jahre recht beträchtliche Werte erreicht haben.

Der letzte Abschnitt ist den Bekämpfungsmaßregeln gewidmet. Leider ist noch keine befriedigende und praktisch anwendbare Methode zur Bekämpfung des Uebels gefunden worden. Die chemischen Mittel, wie Eisenvitriol, auf das anfänglich Hoffnungen gesetzt wurden, Kupfervitriol, Petroleum, Benzin, Schwefelkohlenstoff etc. waren ohne jede oder ohne nachhaltige und sichere Wirkung. Starke Düngung hinderte das Auftreten der Aelchenkrankheit nicht. Ebensowenig wurde dieselbe durch Ausgraben und Verbrennen der ergriffenen Bäume ausgerottet, da im Boden freie Aelchen und befallene Wurzeln zurückbleiben. Isolierung der Krankheitsherde durch Gräben scheint bessere Resultate zu ergeben, wenn gleichzeitig die befallenen Bäume ausgegraben und durch Feuer vernichtet werden. Die (doppelten) Gräben wurden mit Petroleum begossen oder von Zeit zu Zeit mit

---

1) Centralbl. f. Bakt. etc. 2. Abt. Bd. V. 1899. p. 364, 609.

trockenem Gras, Alang-Alang und Unkraut gefüllt und ausgebrannt. Weitere Erfahrungen müssen darüber entscheiden. Starke Bodenbearbeitung, die von einem Pflanzer als Gegenmittel gerühmt wurde, hat anderwärts geradezu die Ausbreitung der Krankheit gefördert, wie das auch leicht zu erklären ist. Auch wird von einem Praktiker angegeben, daß Bepflanzen mit Ataxia Horsfieldii R. Br. geholfen habe. Anderwärts hat man den Javakaffee auf den Seuchenherden ausgerodet, dieselben einige Jahre liegen lassen und mit Andropogon muricatus Retz. bepflanzt und erst nach einigen Jahren wieder mit Javakaffee bebaut. Der Erfolg schien gut zu sein. Die Veredelung von Javakaffee auf Liberiakaffee-Unterlagen hat leider keine günstigen Resultate ergeben, da die Veredelungen schlecht wachsen und kümmern. Man macht auch weitere Versuche mit Veredelung auf andere holzige Rubiaceen (Cinchona, Gardenia u.s.w.), bis jetzt auch ohne Erfolg.

Zimmermann giebt zur Bekämpfung der Aelchenkrankheit folgende Ratschläge: Durch Aelchen verseuchte Stellen dürfen nach dem Eingehen der Javakaffeebäume keinesfalls wieder mit Javakaffee bepflanzt werden. Dort, wo Liberiakaffee gedeiht, kann Liberiakaffee auf denselben gebaut werden oder auf Liberiaunterlage veredelter Javakaffee, letzterer aber nur versuchsweise und im kleinen. Sonst soll man die Krankheitsherde nach Roden und Verbrennen der Wurzeln bei größerer Ausdehnung wieder zu Waldanlagen oder mit anderen Kulturpflanzen, zunächst versuchsweise, bebauen, bei geringer Ausdehnung zum Anbau von Indigo u. dgl. verwenden. Die Seuchenherde sind, um Verschleppung der Aelchen zu vermeiden, möglichst wenig zu bearbeiten und zu betreten.

Die zweite Mitteilung betrifft den sogenannten Krebs der Kaffeebäume, der nach den Ergebnissen der Untersuchungen des Verf.'s besser als Rostrella-Krankheit bezeichnet wird, und der auf verschiedenen Unternehmungen Ostjavas beträchtlichen Schaden verursacht hat. Die Erkrankung äußert sich im plötzlichen Welken der Blätter ganzer Bäume oder Astpartieen, an welchen die Blätter dann herabhängen und sich ins Gelbe verfärben. Meist treten die Krebsbäume vereinzelt in einer Kaffeeplantage auf, selten in Gruppen. Bei näherer Untersuchung findet man die Rinde der Krebsbäume unter dem erkrankten Teile gebräunt und abgestorben. Umfaßt die tote Rindenpartie den ganzen Stamm, so stirbt die ganze Krone ab; von da bis zu kleinen Flecken und dem Absterben einzelner Zweige giebt es alle Mittelstufen, und das lokale Absterben der Rinde kann an allen Teilen des Stammes und, allerdings seltener, der älteren Aeste, mit Ausschluß der noch grünen Zweige, eintreten. Vielfach findet sich unter dem toten Rindenfleck ein besonders kräftiger Wasserschoß. In dem braunen und toten Rindengewebe findet man bei mikroskopischer Untersuchung Mycelfäden mit seitlich ansitzenden, oft auch freien, kugeligen Conidien von brauner Farbe, die sehr charakteristisch für die Krankheit sind.

Die Krankheit ergreift, soweit bekannt, nur den Javakaffee und ist recht verbreitet. Nach den eingelaufenen Berichten waren im Jahre 1898 auf 12 Unternehmungen ungefähr 800000 Bäume dadurch getötet.

Die Ursache der Krankheit ist der Pilz, der in den braunen Rindenpartieen gefunden wurde und den Zimmermann als Rostrella coffeae n. spec. bezeichnet. Das Mycel, welches die Zellen der Rinde bis zum Holz durchzieht, hat wenig Charakteristisches. Jung farblos, färbt es sich später braun. Seitlich werden auf kurzen Zweigen braune Conidien, Makroconidien, von 0,011 bis 0,015 mm Durchmesser gebildet. Dieselben treten auch in künstlichen Kulturen des Pilzes auf angeschnittener Rinde von Kaffeebaumzweigen am Luftmycel, das sich im feuchten Raume bildet, auf. Im hängenden Tropfen (Kaffeerindenabsud) keimen sie mit einem Keimschlauch aus, der sich verzweigen kann, und dessen apikale Enden nach einigen Tagen in 10—20 langgestreckte Einzelzellen (3×6—15 μ) zerfallen. Auch diese vermögen wieder zu keimen. Verf. hält sie für rudimentäre Mikroconidien, die bei Kultur des Pilzes auf angeschnittener Kaffeebaumrinde im feuchten Raume entstehen. Die Oberfläche des Schnittes bedeckt sich dann mit einem weißen Puder, eben den Mikroconidien, die endogen, wie bei Thielaviopsis, in langen Ketten entstehen. Die ältesten sind sehr lang und dünn (4—5×20—30 μ), allmählich nimmt die Dicke zu, die Länge ab, bis $9 \times 10{,}5$ μ, ja bis zum Entstehen kugeliger Mikroconidien. Ihre Keimung läßt sich leicht erzielen. Auch die Perithecien des Pilzes wurden vielfach auf der toten Rinde kranker Bäume gefunden. Nur der lange Hals (0,2—0,26 mm bei 0,02 mm Dicke) derselben ragt frei in die Luft, der zwiebelige Basalteil (Durchmesser 0,1—0,16 mm) ist in der Rinde verborgen. Die Ascosporen treten in Schleimranken oder -kugeln aus; sie sind ellipsoidisch ($0{,}006 \times 0{,}004$ mm) und tragen auf einer Seite ein ringförmiges Häutchen. Die Ascuswand verschleimt bei der Reife der Sporen. Die Ascosporen keimen an beliebigen Stellen der Oberfläche; das von ihnen entspringende Luftmycel (in Hängetropfenkulturen) bildet ebenfalls Mikroconidien. Auf die Entwickelungsgeschichte des Pilzes, seine Stellung und die Begründung der Aufstellung einer neuen Gattung für denselben wird Verf. an anderem Orte eingehen.

Die Infektionsversuche bestätigten den pathogenen Charakter der Rostrella coffeae. Zunächst wurden ältere Stämme und Zweige von Javakaffee teils mit kranken Rindenstücken, teils mit einem Gemenge von Sporen (Ascosporen, Mikro- und Makroconidien) in Wunden infiziert, in allen Fällen mit dem Resultat, daß die Rindenkrankheit ausbrach, und der Pilz mit allen seinen Fruchtformen erschien. Auch Infektion mit reinen Mikroconidien erzeugte die Krankheit; schon nach 5 Tagen waren Mikroconidien und reife Perithecien gebildet, ein weiterer Beweis, daß beide Fruchtformen zusammengehören. Weitere Versuche zeigten, daß der Pilz in sehr feuchter Luft und bei Vorhandensein frischer Wunden sich auch auf den Blättern und den noch grünen Zweigen des Kaffeebaumes entwickeln kann, aber hier nicht vermag, in das gesunde Gewebe vorzudringen. Dasselbe grenzt sich durch Korkbildung ab. Ebensowenig kann der Pilz bei Wundinfektionen in das angrenzende gesunde Gewebe der älteren und jüngeren Rinde von Coffea liberica vordringen, und weiter erwies sich der Pilz als nicht pathogen für Erythrina lithosperma,

Albizzia moluccana, Cedrela serrata, Grevillea robusta, Melia azedarach (Schattenbäume) und für verschiedene Unkräuter (Ageratum, Coleus). Auch Zuckerrohr wird nicht angegriffen; der Pilz ist also nicht identisch mit Thielaviopsis ethaceticus Went, dem Urheber der Ananasziekte des Zuckerrohres.

Die Verbreitungsmöglichkeit des Pilzes wird durch seinen Charakter als ausschließlicher Wundparasit bestimmt. Offene Wunden in der älteren Rinde sind also zu vermeiden. Außerdem sind die kranken Bäume als Infektionsquellen zu beseitigen, wenigstens die kranken Rindenpartieen auszuschneiden und die Wunden mit Teer zu verschmieren, was auf einer Pflanzung von sehr günstigem Erfolge war. Ein Versuch des Verf.'s, bei dem von 36 gleichmäßig mit Rostrella-Sporen infizierten Wunden die Hälfte teils gleich nach der Infektion, teils 2 Tage später geteert war, ergab das Resultat, daß an allen 18 nicht geteerten Wunden Krebsstellen entstanden, von den 18 geteerten dagegen nur an einer einzigen.

Behrens (Karlsruhe).

Untersuchungsmethoden, Instrumente etc.

Certes, A., Colorabilité élective des filaments sporifères du Spirobacillus gigas vivant par le bleu de methylène. (Compt. rend. hebd. de l'Acad. d. Sc. Paris. T. CXXXI. 1900. p. 75—77.)

Schon in früheren Mitteilungen (1885, 1886) hat Verf. über seine intravitalen Bakterienfärbungen berichtet. Während sporenfreie Stäbchen den Farbstoff gleichmäßig in allen ihren Teilen aufnahmen, erschien bei sporentragenden vorwiegend die Spore gefärbt, so daß Verf. den Schluß ziehen konnte, daß die mit Farbspeicherungsvermögen ausgestattete Substanz, in der Bakterienzelle ursprünglich gleichmäßig verteilt, bei der Sporenbildung in der Spore sich konzentriere.

Veranlassung, auf ähnliche Versuche zurückzukommen, brachte die Entdeckung des Spirobacillus gigas, den Verf. in den Cisternen von Aden fand. Der genannte Organismus erreicht bis 400 μ Länge, die Zahl seiner Windungen beträgt 20—40, erreicht aber selbst 140; — jede mißt 4—6 μ in der Breite. Unter unseren Breiten läßt sich der Spirobacillus nur in den Sommermonaten kultivieren.

Behandelt man das aus jungen Kulturen stammende Material mit sehr verdünnten Lösungen von Methylenblau oder Loefflerschem Blau, so färben sich die Bakterien intra vitam gleichmäßig blau; sobald die Sporenbildung erfolgt ist, wird der Farbstoff nur in den Sporen selbst gespeichert. Küster (Halle a. S.).

Entwickelungshemmung und Vernichtung der Bakterien etc.

Hess, Richard, Der Forstschutz. Band II. Der Schutz gegen Laubholzinsekten, Forstunkräuter, Pilze, atmosphärische Einwirkungen und außerordentliche Naturereignisse. 3. Aufl. 608 p. mit 236 in den Text gedruckten Holzschnitten. Leipzig (B. G. Teubner) 1900.

Nachdem bereits 1896 die erste und 1898 die zweite Hälfte des ersten Bandes, welcher den Schutz gegen Menschen, Wild, Nager, Vögel und Insekten enthält, erschienen ist, liegt nunmehr der zweite Band des Werkes vor.

Derselbe beginnt mit dem IV. Abschnitt des II. Buches, dem Schutze der Waldungen gegen Insekten, und zwar dem II. Untertitel, den Laubholzinsekten. Mit gewohnter Ausführlichkeit ist auch dieser Teil auf 172 Seiten behandelt, wobei nicht nur die Kennzeichen und die allgemeine Lebensweise, sondern auch das forstliche Verhalten und die Bekämpfungsmöglichkeiten ausführlich geschildert werden. Zahlreiche Abbildungen von Insekten in verschiedenen Stadien, sowie von Fraßstücken sind beigegeben. Daran schließt sich eine Zusammenstellung der schädlichen Laubholzinsekten nach Fraßholzarten an. Diese Tabelle giebt bei jeder Holzart Auskunft über die befallenen Teile, den Zustand des Tieres, in welchem es auf den betreffenden Teilen vorkommt, den Schädlichkeitsgrad der Insekten, das Alter der befallenen Orte und etwaige Besonderheiten des Fraßes, so daß durch dieselbe die Bestimmung der Schädlinge wesentlich vereinfacht und erleichtert wird.

Das sich anschließende III. Buch enthält den Schutz der Waldungen gegen Gewächse und zerfällt in die beiden Abschnitte: Schutz gegen Forstunkräuter und Schutz gegen Pilze. Der erste dieser Teile ist mit besonderer Ausführlichkeit behandelt und verbreitet sich Verf. vor allem auch über Maßnahmen, die aus der Betriebstechnik resultieren. Nach einem ersten Kapitel, in dem der Begriff, die Klassifizierung, Nützlichkeit, Schädlichkeit der Unkräuter und die gegen dieselben anzuwendenden Vorbeugungs- und Vertilgungsmaßregeln dargelegt werden, werden in einem zweiten Kapitel die einzelnen Arten behandelt. Die Einteilung derselben geschieht dabei zum Teil nach ihren Standorten: Pflanzen der Schläge, des Halbschattens, des Schattens, nasser und torfiger Böden; teils nach der Art ihres Schadens: Unkräuter, welche ranken und überlagern, welche schmarotzen und welche durch Uebertragung von Pilzkrankheiten schaden. Der letzte Abschnitt ist nicht ganz vollständig, allerdings ist ein Teil der fehlenden Arten erst in neuester Zeit als Uebertrager von Pilzkrankheiten erkannt worden.

Der zweite Abschnitt des III. Buches bringt den Schutz gegen Pilze. Nach einer kurzen Allgemeindarstellung werden einzeln behandelt auf Nadelholz als Wurzelpilze: Agaricus melleus, Rhicina undulata, Trametes radiciperda; als Rinden- und Holzpilze: Trametes Pini, Peridermium pini var. corticola, P. strobi, Caeoma pinitorquum, Aecidium elati-

num, Nectria cucurbitula, Peziza Wilkommii, Pestalozzia Hartigii, Cenangium abietis; als Nadelpilze: Peridermium pini var. acicola, Aecidium abietinum, Chrysomyxa abietis, Aecidium columnare, Hysterium pinastri, H. macrosporum, H. nervisequium, Sphaerella laricina, Caeoma laricis, Trichosphaeria parasitica, Herpotrichia nigra; als Zapfenpilze: Aecidium strobilinum, Aec. conorum piceae, Septoria parasitica, Botrytis Douglasii; auf Laubholz als Wurzelpilze: Rosellinia quercina; als Rinden- und Holzpilz: Polyporus sulphureus, Nectria ditissima, N. cinnabarina, Aglaospora haleola; als Cotyledonen- und Blattpilze: Phytophthora fagi, Rhytisma acerinum, Melampsora Hartigii und M. salicis capreae. — Aus dem Umfange von 80 Seiten, den dieser Abschnitt einnimmt, geht schon hervor, daß er nicht so ausführlich behandelt ist wie die übrigen Teile des Werkes, allerdings läßt sich ja auch nicht leugnen, daß gerade die forstlich wichtigen Pilze in ihrer Bearbeitung noch sehr viele Probleme darbieten.

Den Schutz der Waldungen gegen atmosphärische Einwirkungen behandelt das IV. Buch. Es zerfällt in die Abschnitte: Schutz gegen Frost, Hitze, Winde, Regengüsse, Hagel, Schnee, Duft und Eis. Ihm schließt sich Buch V mit dem Schutz gegen außerordentliche Naturereignisse an, von denen besonders Wasserschaden, Lawinen, Flugsand und Waldbrände ausführlich dargestellt sind.

Als Anhang finden sich noch einige Kapitel über solche Krankheiten, die entweder in das gewählte System der Darstellung nicht hineinpaßten oder die verschiedenen Ursachen entspringen können. Dahin gehören Rotfäule, Weißfäule, Schütte und Rauchschaden.

Wer das Buch in die Hand nimmt, wird sofort bemerken, daß der Verf. ein Forstmann ist, der bei allen Bekämpfungen von Krankheiten und Schädigungen im Auge hat, inwieweit sich dieselben mit den Arbeiten im Forst in Einklang bringen lassen. Dieses und die sehr sorgfältige Benutzung der Litteratur sind charakteristisch für das Buch. Appel (Charlottenburg).

Neue Litteratur,

zusammengestellt von

San.-Rat Dr. Arthur Würzburg,

Bibliothekar im Kaiserl. Gesundheitsamte in Berlin.

Allgemeines über Bakterien und Parasiten.

Pisenti, G., I laboratorî provinciali di bacteriologia. Organizzazione di un servicio provinciale di diagnosi bacteriologica delle malattie infettive per la provincia dell'Umbria. 8°. 27, 8 p. Perugia (Unione tipogr. cooper.) 1900.

Symes, J. O., The bacteriology of every day practice. (Medical Monograph Series No. 2.) gr. 8°. 90 p. London (Baillière, Tindall and Cox) 1900. 2/6 d.

Untersuchungsmethoden, Instrumente u. s. w.

Petri, R. J., Neue anaërobe Gelatineschälchen-Kultur (verbesserte Petri-Schälchen). (Centralbl. f. Bakteriol. etc. I. Abt. Bd. XXVIII. 1900. No. 6/7. p. 196—199.)

Entwickelungshemmung und Vernichtung der Bakterien etc.

Hess, Richard, Der Forstschutz. Band II. Der Schutz gegen Laubholzinsekten, Forstunkräuter, Pilze, atmosphärische Einwirkungen und außerordentliche Naturereignisse. 3. Aufl. 608 p. mit 236 in den Text gedruckten Holzschnitten. Leipzig (B. G. Teubner) 1900.

Nachdem bereits 1896 die erste und 1898 die zweite Hälfte des ersten Bandes, welcher den Schutz gegen Menschen, Wild, Nager, Vögel und Insekten enthält, erschienen ist, liegt nunmehr der zweite Band des Werkes vor.

Derselbe beginnt mit dem IV. Abschnitt des II. Buches, dem Schutze der Waldungen gegen Insekten, und zwar dem II. Untertitel, den Laubholzinsekten. Mit gewohnter Ausführlichkeit ist auch dieser Teil auf 172 Seiten behandelt, wobei nicht nur die Kennzeichen und die allgemeine Lebensweise, sondern auch das forstliche Verhalten und die Bekämpfungsmöglichkeiten ausführlich geschildert werden. Zahlreiche Abbildungen von Insekten in verschiedenen Stadien, sowie von Fraßstücken sind beigegeben. Daran schließt sich eine Zusammenstellung der schädlichen Laubholzinsekten nach Fraßholzarten an. Diese Tabelle giebt bei jeder Holzart Auskunft über die befallenen Teile, den Zustand des Tieres, in welchem es auf den betreffenden Teilen vorkommt, den Schädlichkeitsgrad der Insekten, das Alter der befallenen Orte und etwaige Besonderheiten des Fraßes, so daß durch dieselbe die Bestimmung der Schädlinge wesentlich vereinfacht und erleichtert wird.

Das sich anschließende III. Buch enthält den Schutz der Waldungen gegen Gewächse und zerfällt in die beiden Abschnitte: Schutz gegen Forstunkräuter und Schutz gegen Pilze. Der erste dieser Teile ist mit besonderer Ausführlichkeit behandelt und verbreitet sich Verf. vor allem auch über Maßnahmen, die aus der Betriebstechnik resultieren. Nach einem ersten Kapitel, in dem der Begriff, die Klassifizierung, Nützlichkeit, Schädlichkeit der Unkräuter und die gegen dieselben anzuwendenden Vorbeugungs- und Vertilgungsmaßregeln dargelegt werden, werden in einem zweiten Kapitel die einzelnen Arten behandelt. Die Einteilung derselben geschieht dabei zum Teil nach ihren Standorten: Pflanzen der Schläge, des Halbschattens, des Schattens, nasser und torfiger Böden; teils nach der Art ihres Schadens: Unkräuter, welche ranken und überlagern, welche schmarotzen und welche durch Uebertragung von Pilzkrankheiten schaden. Der letzte Abschnitt ist nicht ganz vollständig, allerdings ist ein Teil der fehlenden Arten erst in neuester Zeit als Uebertrager von Pilzkrankheiten erkannt worden.

Der zweite Abschnitt des III. Buches bringt den Schutz gegen Pilze. Nach einer kurzen Allgemeindarstellung werden einzeln behandelt auf Nadelholz als Wurzelpilze: Agaricus melleus, Rhicina undulata, Trametes radiciperda; als Rinden- und Holzpilze: Trametes Pini, Peridermium pini var. corticola, P. strobi, Caeoma pinitorquum, Aecidium elati-

num, Nectria cucurbitula, Peziza Wilkommii, Pestalozzia Hartigii, Cenangium abietis; als Nadelpilze: Peridermium pini var. acicola, Aecidium abietinum, Chrysomyxa abietis, Aecidium columnare, Hysterium pinastri, H. macrosporum, H. nervisequium, Sphaerella laricina, Caeoma laricis, Trichosphaeria parasitica, Herpotrichia nigra; als Zapfenpilze: Aecidium strobilinum, Aec. conorum piceae, Septoria parasitica, Botrytis Douglasii; auf Laubholz als Wurzelpilze: Rosellinia quercina; als Rinden- und Holzpilz: Polyporus sulphureus, Nectria ditissima, N. cinnabarina, Aglaospora haleola; als Cotyledonen- und Blattpilze: Phytophthora fagi, Rhytisma acerinum, Melampsora Hartigii und M. salicis capreae. — Aus dem Umfange von 80 Seiten, den dieser Abschnitt einnimmt, geht schon hervor, daß er nicht so ausführlich behandelt ist wie die übrigen Teile des Werkes, allerdings läßt sich ja auch nicht leugnen, daß gerade die forstlich wichtigen Pilze in ihrer Bearbeitung noch sehr viele Probleme darbieten.

Den Schutz der Waldungen gegen atmosphärische Einwirkungen behandelt das IV. Buch. Es zerfällt in die Abschnitte: Schutz gegen Frost, Hitze, Winde, Regengüsse, Hagel, Schnee, Duft und Eis. Ihm schließt sich Buch V mit dem Schutz gegen außerordentliche Naturereignisse an, von denen besonders Wasserschaden, Lawinen, Flugsand und Waldbrände ausführlich dargestellt sind.

Als Anhang finden sich noch einige Kapitel über solche Krankheiten, die entweder in das gewählte System der Darstellung nicht hineinpaßten oder die verschiedenen Ursachen entspringen können. Dahin gehören Rotfäule, Weißfäule, Schütte und Rauchschaden.

Wer das Buch in die Hand nimmt, wird sofort bemerken, daß der Verf. ein Forstmann ist, der bei allen Bekämpfungen von Krankheiten und Schädigungen im Auge hat, inwieweit sich dieselben mit den Arbeiten im Forst in Einklang bringen lassen. Dieses und die sehr sorgfältige Benutzung der Litteratur sind charakteristisch für das Buch. Appel (Charlottenburg).

Neue Litteratur,

zusammengestellt von

San.-Rat Dr. Arthur Würzburg,
Bibliothekar im Kaiserl. Gesundheitsamte in Berlin.

Allgemeines über Bakterien und Parasiten.

Pisenti, G., I laboratorî provinciali di bacteriologia. Organizzazione di un servicio provinciale di diagnosi bacteriologica delle malattie infettive per la provincia dell'Umbria. 8°. 27, 8 p. Perugia (Unione tipogr. cooper.) 1900.

Symes, J. O., The bacteriology of every day practice. (Medical Monograph Series No. 2.) gr. 8°. 90 p. London (Baillière, Tindall and Cox) 1900. 2/6 d.

Untersuchungsmethoden, Instrumente u. s. w.

Petri, R. J., Neue anaërobe Gelatineschälchen-Kultur (verbesserte Petri-Schälchen). (Centralbl. f. Bakteriol. etc. I. Abt. Bd. XXVIII. 1900. No. 6/7. p. 196—199.)

Systematik, Morphologie und Biologie.

Beijerinck, M. M., On indigo-fermentation. (K. Akadem. v. wetensch. Amsterdam. 1900. p. 495—512.)

Bertrand, G., Sur l'oxydation de l'érythrite par la bactérie du sorbose; Production de deux nouveaux sucres: le d-érythrulose et la d-érythrite. (Bullet. de la soc. chim. de Paris. 1900. No. 16/17. p. 681—686.)

Braun, M., Ueber Campula oblonga Cobb. (Centralbl. f. Bakteriol. etc. I. Abt. Bd. XXVIII. 1900. No. 8/9. p. 249—254.)

Buchner, E., Demonstration der Zymasegärung. (Verhandl. d. Gesellsch. dtsch. Naturforscher u. Aerzte. 71. Versamml. zu München 1900. II. Teil. 1. Hälfte. p. 210—211.) Leipzig (F. C. W. Vogel) 1900.

Feltgen, J., Vorstudien zu einer Pilzflora von Luxemburg. Systematisches Verzeichnis der bis jetzt im Gebiete gefundenen Pilzarten mit Angabe der Synonymie, Fundorte etc. Teil I. Ascomycetes. 8°. 417 p. Luxemburg (Soc. botan. de Luxembourg) 1900. 9,60 K.

Fischer, A., The structure and functions of bacteria. Transl. by A. C. Jones. 8°. London (Clarendon Press) 1900. 8 sh. 6 d.

Hirt, C., Ueber peptonisierende Milchbacillen. [Inaug.-Dissert.] 8°. 30 p. Straßburg i. E. 1900.

Howard, L. O., How to distinguish the different mosquitoes of North America. — **Coquillett, D. W.** Synoptic tables of the North American mosquitoes. (U. St. Departm. of Agricult., Division of entomol. Second. Ser. 1900. No. 40. 8°. p. 7.)

Jacoby, S., Beiträge zur Kenntnis einiger Distomen. [Inaug.-Dissert.] gr. 8°. 30 p. Königsberg 1900.

Jacquemin, G., Les fermentations rationnelles. 8°. Paris (Ch. Dunod) 1900. 15 fr.

Lintner, C. J., Ueber die Selbstgärung der Hefe. (Verhandl. d. Gesellsch. dtsch. Naturforscher u. Aerzte. 71. Versamml. zu München. 1900. II. Teil. 1. Hälfte. p. 163—166.) Leipzig (F. C. W. Vogel) 1900.

Lucet et Costantin, Rhizomucor parasiticus, espèce pathogène de l'homme. (Rev. génér. de botan. 1900. No. 135. p. 81—98.)

Möbius, M., Parasitismus und sexuelle Reproduktion im Pflanzenreiche. (Biolog. Centralbl. 1900. No. 17. p. 561—571.) — **Goebel, K.**, Bemerkung zu der vorstehenden Mitteilung. (Ibid. p. 571—572.)

Quaintance, A. L., Contributions toward a monograph of the American aleurodidae. — **Banks, N.**, The red spiders of the United States (Tetranychus and Stigmaeus). (U. S. Departm. of Agricult. Divis. of entomol. Techn. Ser. 1900. No. 8. gr. 8°. 77 p.) Washington 1900.

Schulz, R., Beschreibung eines Bacillus, welcher dem Milzbranderreger sehr ähnlich ist. (Mitt. d. landwirtschaftl. Institute d. Kgl. Univers. Breslau. 1900. Heft 3. p. 41—43.)

Beziehungen der Bakterien und Parasiten zur unbelebten Natur.

Luft und Wasser.

Brix, J., Besichtigung englischer Kläranlagen, welche mit Oxydationsfiltern (Bakterienbeete) ohne Anwendung von Chemikalien arbeiten. (Gesundheit. 1900. No. 15, 16. p. 153—156, 165—168.)

Fraenkel, C., Ueber die bakteriologischen Leistungen der Sandplattenfilter (Fischer in Worms). (Hygien. Rundschau. 1900. No. 17. p. 817—826.)

v. Schuckmann, W., Die bakteriologische Kontrolle von Wasserwerken mit Filtrationsanlagen. [Inaug.-Dissert.] 8°. 31 p. Breslau 1900.

Weyl, Th., Ueber die Sterilisation von Wasser mittelst Ozons. (Verhandl. d. Gesellsch. dtsch. Naturforscher u. Aerzte. 71. Versamml. zu München 1900. II. Teil. 2. Hälfte. p. 601—605.) Leipzig (F. C. W. Vogel) 1900.

Zimmermann, O. E. R., Die Bakterien unserer Trink- und Nutzwässer, insbesondere des Wassers der Chemnitzer Wasserleitung. III. Reihe. (Aus: „Bericht d. naturw. Ges. zu Chemnitz“.) gr. 8°. 35 p. Chemnitz (Martin Bülz) 1900. 0,90 M.

Nahrungs- und Genußmittel im allgemeinen, Gebrauchsgegenstände.

Bischoff, H. u. Wintgen, M., Beiträge zur Konservenfabrikation. (Ztschr. f. Hygiene etc. Bd. XXXIV. 1900. Heft 3. p. 496—517.)

Fleisch.

Bachmann, F., Ueber die ersten Zeichen der Fleischfäulnis. [Inaug.-Dissert.] 8°. 30 p. Marburg 1899.

Bundle, A., Fleischkunde und Fleischbeschau. Ein Leitfaden für Laienfleischbeschauer und Militärverwaltungsbeamte. Nebst einem Anhang, enthaltend: Das Reichs-Fleischbeschau-Gesetz vom 3. Juni 1900. 8°. 204 p. Berlin (Richard Schröder) 1900. 4 M.

Forssman, J., Bidrag till kännedomen om botulismens bakteriologi. 4°. 35 p. Lund 1900.

Hoff, A., Massenvergiftung durch Fleisch. (Wien. med. Blätter. 1900. No. 24. p. 377—378.)

Kabitz, H., Die Projektion in der Trichinenbeschau. (Verhandl. d. Gesellsch. dtsch. Naturforscher u. Aerzte. 71. Versamml. zu München 1900. II. Teil. 2. Hälfte. p. 637—641.) Leipzig (F. C. W. Vogel) 1900.

Kotze, O., Reichsgesetz, betr. die Schlachtvieh- und Fleischbeschau. Vom 3. Juni 1900. Nach amtl. Materialien bearb. u. durch die einschläg. Gesetze u. Verordnungen ergänzt u. erläutert. Mit Sachregister. 12°. 64 p. Berlin (Dümmler) 1900. 0,60 M.

Pfuhl, E., Ueber die Messung der Temperaturzunahme in Fleischkonserven, die in Kompressionskesseln sterilisiert werden. (Zeitschr. f. Hyg. etc. Bd. XXXIV. 1900. Heft 3. p. 465—474.)

Schneidemühl, G., Die animalischen Nahrungsmittel. 2. Abt. gr. 8° p. 193—384. Mit Abbildungen u. 1 farb. Taf. Wien (Urban & Schwarzenberg) 1900. 4,80 M.

Milch, Molkerei.

Abenhausen, A., Einige Untersuchungen über das Vorkommen von Tuberkelbacillen in der Marburger Butter und Margarine. [Inaug.-Dissert.] 22 p. 8°. Marburg 1900.

Chanoz et Doyon, La coagulation du lait sous l'influence, de la présure s'accompagne-t-elle d'un phénomène électrique? (Lyon méd. 1900. No. 27. p. 335—336.)

du Roi, Ueber die Erhitzung der Vollmilch oder deren Nebenprodukte in den Sammelmolkereien. (Zeitschr. f. Fleisch- u. Milchhyg. 1900. Heft 12. p. 261—265.)

Günther, C. u. Thierfelder, H., Weitere Untersuchungen zur Frage der spontanen Milchgerinnung. (Hygien. Rundschau. 1900. No. 16. p. 769—771.)

Helm, W., Gewinnung und Absatz frischer, tuberkelbacillenfreier Trinkmilch (Eismilch). (Aus: Vierteljahrsschr. f. öffentl. Gesundheitspfl.) gr. 8°. 25 p. Mit 2 Fig. Braunschweig (Friedr. Vieweg & Sohn) 1900. 0,40 M.

Obermüller, Ueber neuere Untersuchungen, das Vorkommen echter Tuberkuloseerreger in der Milch und den Molkereiprodukten betreffend. (Hygien. Rundschau. 1900. No. 17. p. 845—864.)

Rigaux, F., Maladies des fromages. (Laiterie prat. 1900. p. 109—110.)

Weber, A., Die Bakterien der sogenannten sterilisierten Milch des Handels, ihre biologischen Eigenschaften und ihre Beziehungen zu den Magendarmkrankheiten der Säuglinge, mit besonderer Berücksichtigung der giftigen peptonisierenden Bakterien Flügge's. (Arb. a. d. Kaiserl. Gesundh.-A. Bd. XVII. 1900. Heft 1. p. 108—155.)

Bier, Brauerei.

Bocquet, J., Les bières à fermentation haute en Allemagne. (Rev. univ. de la brasserie et de la malterie. 1900. No. 1274, 1275.)

Mélard, L., Maladies microbiennes des bières. (Annal. de la soc. d. brasseurs. T. XIV. 1900. p. 284—289.)

Wein, Weinbereitung.

Carles, P., Un remède préventif contre la maladie des vins. (Vigne franç. 1900 No. 15. p. 233—235.)

Esperienze di vinificazione eseguite nella vendemmia 1899 presso le Regie Cantine sperimentali. (Bollett. di notiz. agrar. 1900. No. 21, 22. p. 937—977, 979—1014.)

Wohnungen, Abfallstoffe etc.

Czaplewski, Ueber Wohnungsdesinfektion mit Formaldehyd. (Verhandl. d. Gesellsch. dtsch. Naturforscher und Aerzte. 71. Versamml. zu München. II. Teil. 2. Hälfte. Leipzig (F. C. W. Vogel) 1900. p. 592—601.)

Ressmeyer, H., Zur Frage der Abwässerreinigung. [Inaug.-Dissert.] 24 p. 8°. Marburg 1900.

Beziehungen der Bakterien und Parasiten zu Pflanzen.

Krankheitserregende Bakterien und Parasiten.

Capus, J., Observations sur l'anthracnose maculée. 15 p. gr. 8°. Bordeaux (impr. Gounouilhou) 1900.

Cavazza, D., La fillossera nel 1899. 8°. Piacenza (Tip. V. Porta) 1900.
Claes, D., De onkruidkunde van H. Meert gewikt en gewogen. 140 p. 8°. Gand (A. Siffer) 1900.
Delacroix, G., Les maladies et les ennemis des caféiers. 2. éd. 216 p. 8°. Avec 50 fig. Paris (Challamel) 1900.
Esclavy, G., La défense du vin. Conférence. 39 p. 8°. Montpellier (Coulet & fils) 1900. 0,50 fr.
Hotter, E., Die wichtigsten Pilzkrankheiten der landwirtschaftlichen Kulturgewächse und ihre Bekämpfung. gr. 8°. 60 p. Mit 47 Abbildungen. Graz (Leuschner & Lubensky) 1900 0,50 M.
Inferrera, G., Un' epidemia negli agrumi. Avvertimenti e consigli. 7 p. 4°. Messina (Filomena) 1899.
Jahresbericht über die Neuerungen und Leistungen auf dem Gebiete des Pflanzenschutzes. Hrsg. v. M. Hollrung. Bd. II. Das Jahr 1899. gr. 8°. VIII, 303 p. Berlin (Parey) 1900. 10 M.
Kühn, J., Der gemeine Teufelszwirn, Cuscuta europaea L., ein neuer Feind der Lupinen, nebst Bemerkungen über Verbreitung und Bekämpfung der landwirtschaftlich schädlichen Seidearten. [Erweit. Sonderabdr. aus: Berichte aus dem physiol. Laboratorium etc. des landw. Instituts der Universität Halle.] gr. 8°. 22 p. Mit 1 Lichtdr.-Taf. Dresden (G. Schönfeld) 1900. 1 M.
Lucet, E., Les insectes nuisibles aux rosiers sauvages et cultivés en France. Description et moeurs; dégâts: moyens de destruction. 2. éd. XI, 381 p. 13 pl. et 170 fig. hors texte. 8°. Paris (Klincksieck) 1900.
Ottavi-Marescalchi, Come si combattono le malattie e gli insetti delle piante coltivate. 50 p. 16°. Casale (Tipogr. Carlo Cassone) 1900.
Philippeau, La destruction du phylloxéra par de simples labours. Petit-8°. 10 p. Paris (impr. Massonié) 1900.
Zehntner, L., De boorderplag in 1898. Verslag over 1899 van het proefstat. v. suikerriet in West-Java te Kagok-Tegal. p. 20—23.
— —, Bestrijding der ratten. Verslag over 1899 van het proefstat. v. suikerriet in West-Java te Kagok-Tegal. p. 24—27.

Inhalt.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.

Centralblatt

für

Bakteriologie, Parasitenkunde u. Infektionskrankheiten.

Zweite Abteilung:

Allgemeine, landwirtschaftlich-technologische Bakteriologie, Gärungsphysiologie, Pflanzenpathologie und Pflanzenschutz.

In Verbindung mit

Prof. Dr. **Adametz** in Wien, Prof. Dr. **J. Behrens** in Weinsberg i. W., Prof. Dr. **M. W. Beijerinck** in Delft, Dr. **v. Freudenreich** in Bern, Privatdocent Dr. **Lindau** in Berlin, Prof. Dr. **Lindner** in Berlin, Dr. **Morris**, Chef des Hansen-Laboratory, Jenner-Institute of Preventive Medicine in London, Prof. Dr. **Müller-Thurgau** in Wädensweil, Dr. **Erwin F. Smith** in Washington, D. C., U. S. A., Prof. Dr. **Stutzer** in Breslau, Prof. Dr. **Wehmer** in Hannover, Prof. Dr. **Weigmann** in Kiel und Prof. Dr. **Winogradsky** in St. Petersburg

herausgegeben von

Dr. O. Uhlworm in Cassel

und

Prof. Dr. Emil Christian Hansen in Kopenhagen.

Verlag von Gustav Fischer in Jena.

VI. Bd. **Jena,** den 2. November 1900. **No. 21.**

Jährlich erscheinen 26 Nummern. Preis für den Band (Jahrgang) 20 Mark. Preis für eine einfache Nummer 75 Pfg., für eine Doppelnummer 1 Mark 50 Pfg. Nummern mit Tafeln kosten für jede Tafel 50 Pfg. mehr.

Hierzu als regelmäſsige Beilage die Inhaltsübersichten der I. Abteilung des Centralblattes.

Wünsche wegen Lieferung von besonderen Abdrücken wollen die Herren Mitarbeiter auf die Manuskripte schreiben oder bei Rücksendung der ersten Korrekturabzüge der Verlagsbuchhandlung mitteilen.

Original-Mitteilungen.

Ueber kernlose Bakterien.

Von **G. Marpmann** in Leipzig.

Die Färbung der Bakterienhüllen hat schon vor einigen Jahren zu der Annahme geführt, daß sämtliche Spaltpilze aus einem schleimigen Zellkörper bestehen, in dem sich der Kern in runder oder gestreckter Form befindet und durch die basischen Anilinfarbstoffe nachgewiesen wird. Es würde somit das, was man seither als Ba-

cillus oder **Micrococcus** bezeichnet hat, nichts anderes sein, als der gefärbte Kern einer Bakterienzelle.

Die Versuche der letzten Jahre haben gezeigt, daß nur einzelne der bis jetzt bekannten Bakterienspecies eine Färbung der ganzen Zelle zulassen und daß auch hier die Färbung nicht immer gelingen will, also von gewissen unbekannten Nebenumständen abhängig ist. Auf der anderen Seite giebt es Spaltpilze, die in gewissen Kulturen stets eine Hülle bilden, die in anders geleiteten Kulturen verschwinden oder überhaupt nicht gebildet werden, und daß auch hier Fälle vorkommen, in denen sich die Hüllen sehr schwierig färben lassen. Es steht somit fest, daß die Substanz der sogenannten Bakterienzelle oder der Hülle resp. Kapsel nicht bei allen Spaltpilzen aus denselben Stoffen gebildet ist und daß die Stoffe nach Art der chemischen Zusammensetzung des Nährbodens sehr variieren und endlich, daß diese Hüllen bei besonderen Verhältnissen von Temperatur und Nährboden überhaupt nicht gebildet werden. Nun kann hier selbstverständlich nicht behauptet werden, daß etwas nicht da ist — wenn man dasselbe nicht nachzuweisen imstande ist —, es ist sehr wohl möglich, daß die Kapseln sich unter allen Umständen ausbilden, daß sie sich unter Umständen jedoch unserer Beobachtung entziehen. Das bedeutet mit anderen Worten, daß die Spaltpilze zu vollkommen ausgebildeten Zellkörpern gehören, welche aus Protoplasmaleib und aus Kern bestehen und entwickelungsgeschichtlich eine bedeutend höhere Stufe einnehmen, als man ihnen seither zugeteilt hat. Bis hierher führen uns die theoretischen Bahnen, da es nicht gelungen ist, die kompleten Zellkörper bei allen Spaltpilzen zur Anschauung zu bringen, und die experimentellen Forschungen haben bis jetzt keine Beweise erbringen können, daß die Bakterien nun auch da, wo man sie nicht sieht, aus Zellleib und Zellkern bestehen. Es liegt aber keine Veranlassung vor, die aufgestellte Theorie umzustürzen, es liegt im Gegenteil viel näher, den Gedankengang über die Zellstruktur weiter zu verfolgen und dadurch zu neuen Theorieen und vielleicht auch zu neuen Thatsachen zu gelangen.

Wenn man sieht, daß die Bakterienkörper bei der gewöhnlichen Färbung aus einem kleinen Körnchen oder Stäbchen bestehen, daß dieselben Körper nach besonderen Verfahren, z. B. Cilienfärbung, einen bedeutend stärkeren Umfang aufweisen, und daß endlich bei Anwendung direkter Baumwollfarben, wie Brahmafarbstoffe, Diaminschwarz, Diaminrot und Diaminviolet und vieler anderer die Zelle gefärbt wird und dann der Kern durch Fuchsin oder Methylenblau kontrast gefärbt erscheint, so giebt diese Thatsache zu weiteren höchst wichtigen Schlüssen Veranlassung.

Eine sehr schöne Färbung besteht aus Erika B. von der Anilinfarbenfabrik-Aktiengesellschaft Berlin S.O., mit Thiochromogen von **Dahl & Co.**, Barmen und Bordeaux von der badischen Anilinfabrik, Ludwigshafen.

Die flambierten Präparate bringt man nacheinander in die verdünnten Lösungen der Farbstoffe in Wasser und spült in Wasser ab.

Es hat Jahrzehnte gedauert, bis man eine Kapselfärbung bei

solchen Bakterien gelernt hat, die nach der Kernfärbung niemals eine Kapsel erkennen lassen. Zuerst waren es Anthrax-, dann Typhusbacillen und in neuerer Zeit schließen sich mehrere Species an. Wenn wir sehen, wie schwer es ist, nicht nur diese Kapsel mit ihren Anhängseln, Cilien so darzustellen, daß dieselben unter allen Umständen erkannt werden können, d. h. also auch da, wo man bis jetzt dieselben nicht erkannt hat, also ohne besondere Kultur der Bakterien, so dürfen wir wohl annehmen, daß uns in dem Entwickelungskreise der Bakterien doch noch Momente verborgen sein dürften, welche auf die allgemeinen Erscheinungen, die diese Organismen in der Natur spielen, von einem bedeutenden Einfluß sind.

Die erste Frage, welche sich aufdrängt, „kommen Bakterien ohne Hüllen vor?" ist zu bejahen, man sieht bei der Färbung von Klatschpräparaten die Pilze oft so dicht aneinandergelagert, daß hier eine Hülle von irgendwelcher Dimension nicht anzunehmen ist, oder dieselbe ist so zart, daß man sie kaum wahrnehmen kann. Der Gegensatz dieser Annahme, wenn man die Frage umdreht und so stellt, „kommen Bakterienzellen ohne Kerne vor?" — diese Frage können wir nur hypothetisch beantworten, Beweise haben wir bis jetzt nicht — aber es ist die Frage, welche aus den hier beschriebenen Erscheinungen direkt gestellt werden muß. Die Frage ergiebt sich als notwendige Konsequenz der meisten Entdeckungen, die Antwort kann auch ohne Beweis, aus denselben Entdeckungen abgeleitet werden und kann vorläufig nur eine bejahende sein. Das heißt, wir müssen nach den heute bekannt gewordenen morphologischen Thatsachen über die Bakterienzelle annehmen, daß unter Umständen die Zelle kernlos war und als Cytode lebensfähig bleibt, aber infolge der schwierigen Färbbarkeit bis jetzt nicht nachgewiesen werden konnte. Gegen diese Annahme dürften vorläufig keine wesentlichen Einwendungen gemacht werden, es sprechen im Gegenteil Gründe genug dafür, daß die Spaltpilze in Formen vorkommen, die wir zur Zeit nicht kennen oder nachweisen können.

Hierdurch gewinnt die Bakteriologie wieder eine interessante Seite und es ist nicht unwahrscheinlich, daß der hier geäußerte Gedanke bereits von anderen Seiten in derselben Weise gefaßt und dieser Forschung näher getreten ist. Es ist auch nicht ungünstig für die allgemeine Forschung, wenn von Zeit zu Zeit neue Fragen aufgeworfen und neue Gesichtspunkte in die einseitig werdenden Untersuchungen hineingetragen werden.

19. Juli 1900.

Der Einfluss der Kohlensäure auf die Gärung.

[Mitteilungen aus der vom Kgl. bayer. Staate subventionierten Versuchsstation für Bierbrauerei zu Nürnberg.]

Von Dr. **Hugo Ortloff.**

Einleitung.

Ueber den Einfluß der Kohlensäure auf die Gärung sind schon des öfteren Versuche angestellt und deren Ergebnisse veröffentlicht worden; jedoch wurden diese Versuche noch nie so durchgeführt, daß man die Resultate hätte als vollständig richtig und erschöpfend betrachten können. Die Ansichten über den Einfluß der Kohlensäure auf die Gärung gehen daher heute noch auseinander.

So hat Prantl[1]) im Jahre 1865 mit Hefe versetzte Würze in ein Glasrohr gebracht, dieses zugeschmolzen und zur Gärung angegestellt. Um einen Vergleich mit einer unter normalen Verhältnissen verlaufenden Gärung zu ermöglichen, ließ Prantl eine gleiche Probe von Hefe und Würze in einem offenen Glasrohr vergären. Das zugeschmolzene Rohr, in dem sich die Kohlensäure, welche sich bei der Gärung entwickelte, in dem über der Würze befindlichen, hermetisch abgeschlossenen Raume ansammelte und hierdurch einen höheren Druck, als den normalen entstehen ließ, öffnete Prantl nach 5 Tagen und machte eine Alkoholbestimmung, welche 2,18 Gewichtsprozente ergab. Ebenso wurde eine Alkoholbestimmung in der in dem offenen Rohre vergorenen Mischung gemacht, indessen schon nach 4 Tagen, und ein Alkoholgehalt von 3,10 Gewichtsprozenten gefunden.

Daß in dem luftdicht verschlossenen Rohr die Gärung gehemmt wurde, war damit erwiesen; allein es blieb noch zweifelhaft, ob dies eine direkte Folge des Druckes der am Entweichen verhinderten Kohlensäure sei, oder aber ob die Verlangsamung der Gärung der geringeren Bewegung in der gärenden Würze bei luftdichtem Verschluß zuzuschreiben war.

Um dies zu entscheiden, füllte Prantl 4 gleiche Röhren mit Hefe und Würze, wovon 2 zugeschmolzen wurden, während 2 offen blieben. Je eine von den geschlossenen und offenen Röhren wurde jedoch, um eine Bewegung in der gärenden Würze zu erzeugen, häufig umgeschüttelt.

Aus den bei diesen Versuchen erhaltenen Resultaten ergab sich, daß die Gärung durch die Bewegung der Hefe in der Flüssigkeit wesentlich gefördert, dagegen durch den Druck unmittelbar nicht beeinträchtigt wurde.

Prof. Delbrück und Georg Foth[2]) ließen 3 mit Würze

1) Der bayer. Bierbrauer. 1865.
2) Wochenschrift für Brauerei. 1887. p. 37.

und Hefe gefüllte Flaschen vergären und zwar eine unter normalen Verhältnissen, die zweite unter einem Ueberdruck von 400 mm Quecksilber, die dritte endlich unter demselben Minderdruck und fanden, daß die Würze, in welcher die Gärung unter Ueberdruck verlief, welche also einen größeren Gehalt an Kohlensäure aufwies, hinter der normal gärenden Würze zurückblieb, daß hingegen die Würze, die unter Minderdruck vergor, aus der mithin die unter normalem Druck absorbierte Kohlensäure stetig herausgezogen wurde und welche also einen geringeren Kohlensäuregehalt besaß, als die normal vergärende Würze, dieser in der Vergärung vorauseilte.

Ferner wiederholte Delbrück die Versuche Prantl's, indem er 4 mit Hefe und Würze beschickte Röhren zur Gärung anstellte, von denen zwei zugeschmolzen wurden, zwei dagegen offen blieben. Von diesen Röhren wurden je eine offene und geschlossene täglich 5mal umgeschüttelt und nach 3 Tagen eine Untersuchung auf Alkohol, Extrakt und Anzahl der Hefezellen angestellt, wobei konstatiert wurde, daß bei den geschlossenen Röhren, die also unter Druck vergoren, der Alkoholgehalt und die Vergärung eine geringere war.

Durch einen weiteren, gleichen Versuch, bei dem jedoch nur die zugeschmolzenen Röhren des öfteren kräftig umgeschüttelt wurden, während die offenen ruhig stehen bleiben, und bei dem die Vergärung in den geschlossenen Röhren trotz der durch das Schütteln bewirkten Bewegung hinter der normalen Gärung zurückblieb, folgerte Delbrück im Gegensatz zu Prantl, der die gärungshemmende Eigenschaft der Kohlensäure in Abrede gestellt hatte, daß die Verzögerung der Gärung in geschlossenen Röhren nicht die Folge der geringeren Bewegung der Würze, sondern die direkte Folge der gärungshemmenden Eigenschaft der Kohlensäure sei.

Nach den gemachten Versuchen zog nun Delbrück den Schluß, daß die Kohlensäure nicht allein das Hefewachstum beeinträchtigt, sondern auch einen hemmenden Einfluß auf die Gärthätigkeit ausübt.

Gegen diese letztere Schlußfolgerung wendet sich Emil Chr. Hansen[1]), welcher glaubte, an der Hand der Delbrück'schen Versuche nachweisen zu können, daß die Kohlensäure die Gärthätigkeit der Hefezellen nicht nur nicht gehemmt, sondern sogar durch Gärungsenergie gesteigert hat, indem er sagt: „Gegen Prantl hat Delbrück darin Recht, daß in geschlossenen Röhren mit starker Kohlensäurespannung eine geringere Vergärung eintritt, als in offenen, sonst gleichen Gefäßen. Wenn man aber die von Delbrück gefundenen Zahlen näher studiert, so wird man doch finden, daß sie keineswegs zeigen, daß die Kohlensäure die Gärwirksamkeit der Zellen gehemmt hat. Nimmt man die in Frage kommenden Zahlen und berechnet davon die Arbeit, welche jede Zelle in den 4 Röhren ausgeführt hat, so zeigt sich, daß der Kohlensäuredruck sogar die Gärungsenergie der Zellen gesteigert hat. Wenn aber die in den geschlossenen Röhren ausgeführte Gesamtarbeit dennoch eine geringere

1) Centralbl. f. Bakteriol. und Parasitenkunde. Bd. I. 1887.

war, als in den offenen, so ist die Ursache dafür nicht darin zu suchen, daß die Kohlensäure eine direkt gärungshemmende Einwirkung auf die Zellen ausgeübt hat, sondern darin, daß sie die Vermehrungsfähigkeit derselben eingeschränkt hat."

Hierauf erwidert Delbrück, daß die Gärflüssigkeiten infolge der ungleichen Hefegaben und der einseitig beschleunigten Gärung nur ganz kurze Zeit in ihrer Zusammensetzung wirklich gleich blieben; sobald aber die Würzen verschiedenen Extraktgehalt besäßen, höre die Möglichkeit auf, die in diesen Würzen von den beiden Hefen entwickelte Gärungsenergie miteinander zu vergleichen. Wenn die Gärthätigkeit von Beginn der Gärung bis zur Beendigung nicht eine gleichmäßige sei, so dürfe man die in gewissen Zeiträumen entwickelte Gärungsenergie einer gewissen Hefenmenge nur unter Berücksichtigung des Vergärungsgrades in Rechnung ziehen. Dies habe Hansen unterlassen, da er bei seinen Berechnungen stillschweigend annahm, daß bei den einzelnen Würzen bei verschiedenem Extrakt- und Alkoholgehalt jede Hefezelle dieselbe Gärthätigkeit entwickele.

Delbrück fügt noch hinzu, daß seine Versuche einen Schluß auf die Wirkung der Kohlensäure auf die einzelne Hefezelle nicht zulassen. Er habe sich auch nicht in dem Sinne ausgesprochen, daß die gärungshemmende Einwirkung der Kohlensäure auf die einzelne Hefezelle erwiesen sei, sondern daß er vielmehr nur den durch die Kohlensäure auf die Gärung hervorgebrachten Gesamteffekt im Auge gehabt habe. Es erscheine ihm jedoch auch nicht zweifelhaft, daß die Kohlensäure auch auf die Gärungsenergie der einzelnen Zelle lähmend einwirke, ob in demselben Maße, wie auf die Vermehrungsfähigkeit derselben, lasse er dahingestellt.

Diesen Versuchen von Delbrück schließt sich ein weiterer von Lindet an, über den H. Will in der Zeitschrift für das gesamte Brauwesen. 1890. p. 113 berichtet. Lindet ging bei der experimentellen Untersuchung der Frage über den Einfluß der Kohlensäure auf den Gärungsprozeß von der Erfahrung aus, daß der Alkohol auf die Vermehrung der Hefe einen schädlichen Einfluß ausübt. Um zu entscheiden, ob nicht auch die Kohlensäure bei Erreichung eines bestimmten Grenzwertes einen ähnlichen entwickelungshemmenden Einfluß auf die Hefe ausübe, vergor er in 4 gleich großen Flaschen gleiche Mengen Würze mit gleichen Mengen Hefe und benutzte die bei der Gärung entstehende Kohlensäure, um in den Gärgefäßen Kohlensäure-Atmosphären von verschiedenem Druck hervorzubringen.

Lindet konnte bei diesen Versuchen einen Einfluß des verschiedenen Kohlensäuredruckes auf den Gang und die Produkte der Gärung nicht nachweisen. Die Bestimmung des Alkohols und die Menge der resultierenden Hefe ergab in allen Fällen so identische Zahlen, daß er sich mit Bestimmtheit gegen einen entwickelungshemmenden Einfluß der Kohlensäure auf die Lebensfähigkeit der Hefe ausspricht.

Auch in der kgl. Lehranstalt für Obst- und Weinbau zu Geisenheim a. Rhein wurde eine längere Versuchsreihe [1]) angestellt, durch

---

1) Aus dem Jahresbericht der Lehranstalt entnommen und in der Zeitschrift für das gesamte Brauwesen. 1894. p. 136 veröffentlicht.

welche das Verhalten der bei der Weingärung am häufigsten vorkommenden Organismen: echte Weinhefe, zugespitzte Hefe, Kahmpilz, Torula species, Essigbakterium, Penicillium glaucum, Mucor racemosus und Dematium pullulans in einer Kohlensäureatmosphäre geprüft wurde und welche folgendes Resultat ergab: Die beiden Hefearten (Saccharomyces ellipsoideus und apiculatus) wurden durch die Anwesenheit der Kohlensäure in ihrem Wachstum bedeutend gehemmt, jedoch die zugespitzte Hefe bedeutend mehr, als die echte Weinhefe (Saccharomyces ellipsoideus). Die Schimmelpilze, Penicillium glaucum, Mucor racemosus und Dematium pullulans wurden durch die Kohlensäure nicht nur am Wachstum verhindert, sondern starben in einer Atmosphäre dieses Gases alsbald ab. Kahmpilz, Essigbakterium und Torula species dagegen wurden nur am Sprossen verhindert, blieben jedoch selbst am Leben.

Schließlich hat noch Dr. Hermann Lange nach einer Mitteilung aus dem Laboratorium der Versuchs- und Lehrbrauerei in Berlin Versuche angestellt, bei denen er von der Delbrück'schen Ansicht ausging, daß die Kohlensäure als ein Stoffwechselprodukt der Hefe naturgemäß die Vermehrungsfähigkeit und Thätigkeit der letzteren aufhält und somit als ein Hemmnis der Gärung anzusehen ist, daß sie jedoch andererseits durch die in der gärenden Flüssigkeit erzeugte Bewegung, infolge deren die Hefe stetig ihr Arbeitsfeld verlegt, wie andere indifferente Gase eine Beschleunigung der Gärung herbeiführt.

Die Versuche wurden derart ausgeführt, daß 4 Gärflaschen mit je 1 l Vorderwürze und je 3 g Betriebshefe beschickt und so hintereinander geschaltet wurden, daß die in Flasche I infolge der Gärung entwickelte Kohlensäure durch die Würze der Flasche II, von dieser in die nächstfolgende u. s. w. geleitet wurde, so daß die durch den Kohlensäurestrom in den einzelnen Flaschen hervorgerufene Bewegung proportional der Gärflaschenanzahl stetig zunahm und die Würze in Flasche 4 etwa 4-fach so stark bewegt wurde, als diejenige in Flasche 1. Um durch mitgerissenes Wasser nicht zu Trugschlüssen geleitet zu werden, wurde zwischen je 2 Flaschen eine Waschflasche mit H_2SO_4 konz. eingeschaltet. Ferner wurde, um die Mitwirkung des Sauerstoffs von einer Flasche in die andere auszuschließen, die über der Würze in der Gärflasche befindliche Luft zuvor durch Kohlensäure verdrängt. Bei den derart angestellten Versuchen sowohl, als auch bei solchen, bei denen technisch dargestellte Kohlensäure in zunehmender Stromstärke in die Gärflaschen eingeleitet wurde, ergab sich mit der stärker werdenden Bewegung durch den Kohlensäurestrom eine Zunahme des Kohlensäureverlustes. Nach vollständiger Beendigung der Gärung wurde die Hefenmenge pyknometrisch bestimmt, und in allen 4 Flaschen annähernd dasselbe Quantum gefunden, wobei jedoch die Möglichkeit bestehen bleibt, daß in den stärker bewegten Gärflüssigkeiten vielleicht doch das entstehende Hefenquantum zu einer früheren Zeit herangewachsen war.

Lange läßt es nach diesen Erwägungen dahingestellt, ob der schnellere Verlauf der Gärung durch eine früher eintretende Ver-

mehrung oder lediglich durch eine stärkere Gärwirkung der einzelnen Zelle hervorgerufen ist, nimmt aber aus theoretischen Gründen an, daß sowohl schnelleres Wachstum, wie verstärkte Gärthätigkeit der einzelnen Zelle die Wirkung hervorgebracht haben.

Dies sind, kurz beschrieben, die Versuche und Beobachtungen, welche bisher angestellt worden sind, um den Einfluß der Kohlensäure auf die Gärung zu erforschen. Bei genauerer Betrachtung der einzelnen in Rücksicht zu ziehenden und mitwirkenden Umstände fallen verschiedene Momente auf, infolge deren die Versuche und die aus diesen gezogenen Schlüsse, wie schon oben erwähnt, erschöpfend und vollständig richtig nicht sein können. So sind z. B. die zur Anwendung gebrachten Hefen keine Reinkulturen von bestimmten Arten, welche dazu in ungenauen Mengen und in nicht gleichem Vegetationszustand zur Arbeit gezwungen waren, wogegen es bei vergleichenden Versuchen mit verschiedenen Hefen doch vor allen Dingen nötig ist, stets eine möglichst gleiche Anzahl Hefezellen auszusäen und ferner stets Hefen gleichen Alters zu verwenden, welche in gleichen Nährflüssigkeiten von bekannter Zusammensetzung unter den nämlichen Bedingungen gezüchtet worden sind, um sowohl für Vermehrungs- als auch für Gärvermögen feststehende Daten zu erhalten, wie schon Korff bei Abfassung seiner Dissertation „Der Einfluß des Sauerstoffs auf die Gärung“ dargelegt hat[1]).

Was schließlich den wichtigsten Punkt, den Vorgang der Einwirkung der Kohlensäure anlangt, so wurde bei fast allen oben angeführten Versuchen lediglich die Kohlensäure in Betracht gezogen, die bei der Gärung in geschlossenen Gefäßen entsteht; Delbrück und Foth machten eine Aenderung, insofern sie durch eine Quecksilbersäule einen künstlichen Druck erzeugten. In welcher Weise bei meinen Versuchen die Kohlensäure direkt einwirkte, werde ich weiter unten darlegen. Schließlich haben die meisten Forscher wohl die gärungshemmende Eigenschaft der Kohlensäure zu erkennen geglaubt, jedoch nur Hansen hat aus den Versuchen Delbrück's die Arbeitsleistung der einzelnen Zelle näher ins Auge gefaßt.

Alle diese Punkte habe ich, wie ich weiter unten näher auszuführen bemüht sein werde, bei meiner Arbeit nach Möglichkeit in Berücksichtigung gezogen.

Experimenteller Teil.

Die zur Anwendung gebrachten Heferassen waren Reinkulturen von Saaz, Frohberg, Logos, Saccharomyces Pastorianus I, II, III, Saccharomyces ellipsoideus I, II und Saccharomyces cerevisiae I Hansen. Als Nährflüssigkeit benützte ich Lösungen von Saccharose unter Zusatz von Hefewasser.

Die Versuche, welche ich anstellte, gliedern sich in zwei Abteilungen:

1) Versuche unter gewöhnlichen Bedingungen;
2) Versuche im Kohlensäurestrom.

---

1) Centralbl. f. Bakteriol. und Parasitenkunde. II. Abt. Bd. IV. p. 465 u. f.

Bei den Versuchen unter gewöhnlichen Bedingungen wurden Gärkolben nach Erlenmeyer'schem System benutzt. Auf dieselben wurde ein senkrecht stehender Rückflußkühler aufgesetzt, um ein Entweichen von Alkohol und flüchtigen Säuren während der Gärung zu vermeiden. Die Glasröhre desselben reichte nach unten durch einen festschließenden Gummistopfen einige Centimeter tief in den Gärkolben hinein, während sie oben U-förmig gebogen war. Hieran wurde, mittels eines Gummischlauches luftdicht verbunden, ein System von Waschflaschen angefügt, welche je zu ungefähr $^1/_3$ mit destilliertem Wasser gefüllt waren. Durch eingehende Vorversuche hatte Fr. Hess bei Bearbeitung seiner Dissertation „Vergärung von Saccharose durch die Hefen Saaz, Frohberg und Logos unter verschiedenen Ernährungsbedingungen"[1]) ermittelt, daß, nachdem zuerst eine, dann 2, 3 und zuletzt 4 Waschflaschen vorgelegt wurden, nach Verlauf der Gärung in der letzten Waschflasche weder Alkohol, noch Säuren nachzuweisen waren. Dagegen ergab sich, daß bei einzelnen Versuchen in der ersten, zweiten und dritten Waschflasche Alkohol, resp. Säuren gefunden wurden. Die Gärkolben standen in einem Wasserthermostaten, der durch einen Mikrobrenner und Thermoregulator auf einer konstanten Temperatur von 25° C erhalten wurde. Die Kühler der verschiedenen Gärkolben waren unter sich durch Gummischläuche verbunden und von kaltem Wasser durchspült. Sämtliche Gärkolben wurden täglich gleichmäßig und gleichlang umgeschüttelt, um die gleichmäßige Verteilung der Hefezellen in der Nährlösung zu bewirken. Beobachtet wurde der Verlauf der Gärung, indem die Versuche nach 4, 8, 14 und 28 Tagen unterbrochen und analysiert wurden. Die Waschflaschen wurden mit der Gärflüssigkeit vereinigt und sodann auf 300 ccm aufgefüllt. Durch die Analyse wurde die Menge des Invertzuckers, des etwa noch vorhandenen Rohrzuckers, des gebildeten Alkohols und der entstandenen Säuren bestimmt. Die Säuren wurden sowohl als Gesamtsäure, als auch getrennt, als fixe und flüchtige organische Säuren ermittelt. Desgleichen wurde mittels des weiter unten erwähnten Zählapparates die Anzahl der Hefezellen und aus dieser in Vergleich mit der Anzahl der geimpften Zellen die Vermehrung festgestellt.

Zu den Versuchen wurden ausschließlich Reinkulturen junger, gärtüchtiger Zellen von stets gleicher Beschaffenheit verwendet, und zwar wurde dies dadurch erreicht, daß nur solche Hefe zur Impfung verwendet wurde, die in steriler Bierwürze im Thermostaten bei 25° C gezüchtet und nicht älter als 24 Stunden war. Es wurde ferner der Umstand ins Auge gefaßt, daß eine möglichst gleich große Anzahl von Hefezellen geimpft wurde, um bei den verschiedenen Versuchen eine vergleichende Uebersicht über die durch eine gleich große Anzahl Hefezellen hervorgebrachten Veränderungen zu erhalten, d. h. die Arbeitsleistung der einzelnen Zelle zu berechnen. Zu diesem Zwecke wurde 1 Tropfen der frischen Hefe in ca. 100 ccm sterilen Wassers gegeben, durch kräftiges Umschütteln möglichst gleichmäßig verteilt und mittels eines Zählapparates nach Zeiss

---

1) Bayer. Brauerjournal. Bd. VIII. 1898. p. 445 u. f.

unter dem Mikroskop der Gehalt eines Kubikmillimeters an Hefezellen festgestellt. Als Durchschnitt wurde bei allen Versuchen eine Aussaat von 20 Zellen in einem Kubikmillimeter vorgenommen. Die Hefezählung wurde, wie schon erwähnt, sowohl vor der Aussaat, als auch nach Beendigung der einzelnen Versuche ausgeführt und dadurch die Vermehrung der Zellen konstatiert.

Mittels steriler Pipette wurde nun die der Anzahl der gefundenen Hefezellen entsprechende Quantität der die Hefe enthaltenden Flüssigkeit dem Gärkolben zugegeben. Die Impfung selbst wurde in einem Ueberführungskasten vorgenommen, der durch Auswaschen mit einer Sublimatlösung (1 : 1000) gegen etwaige Infektion schützte. Nachdem der Gärkolben geimpft war, wurde der Rückflußkühler, welcher ebenfalls durch heiße Wasserdämpfe steril gemacht war, aufgesetzt und mit den Waschflaschen verbunden.

Als Gärflüssigkeit diente eine 10-proz. Rohrzuckerlösung, und zwar wurde diese deshalb gewählt, weil nach den Untersuchungen von Brown in einer 5—20-proz. Lösung die Gärung am günstigsten verläuft. Der Zuckerlösung war 10 Proz. Hefewasser hinzugefügt, da die Hefe außer Zucker zur Ernährung und Weiterentwickelung stickstoffhaltiger Substanzen bedarf.

Da der käufliche Rohrzucker stets geringe Quantitäten unorganischer Bestandteile und häufig Invertzucker enthält, so war es erforderlich, durch Umkrystallisieren nach der Landoldt'schen Vorschrift chemisch reinen Rohrzucker darzustellen. Zu diesem Zwecke wurde 1 kg feinkörniger, weißer Kandiszucker, im Handel unter dem Namen „Hagelzucker“ bekannt, in $^1/_2$ l Wasser unter Erwärmen aufgelöst, in eine Porzellanschale heiß filtriert, mit 2 l absoluten Alkohols versetzt und unter häufigem Umrühren erkalten lassen, bis sich der Zucker abgeschieden hatte. Dieser wurde mit der Saugpumpe abgesaugt, mit Alkohol und Aether nachgewaschen und bei ca. 60° getrocknet, bis aller Alkoholäther verschwunden war. Sodann wurden mehrere Liter 10-proz. Lösung mit destilliertem Wasser hergestellt, dieselbe mit 10-proz. Hefewasser versetzt und hiervon je 150 ccm in die Gärkolben abgemessen. Diese wurden mit Wattestopfen verschlossen und in strömendem Wasserdampf sterilisiert. Die sterile Flüssigkeit wurde einige Tage unter öfterem Umschütteln stehen gelassen, um so mit Sauerstoff gesättigt zu werden, ehe sie zur Verwendung kam. Hierauf wurde der genaue Gehalt an Rohrzucker auf folgende Weise bestimmt:

1) durch das spezifische Gewicht nach Balling,
2) durch Polarisation,
3) durch Inversion des Rohrzuckers nach Clerget sowie Bestimmung und Berechnung des Rohrzuckers nach Kjeldahl aus dem gefundenen Invertzucker.

(Fortsetzung folgt.)

Nachdruck verboten.

Ueber eine neue Bacillenart.

[Aus dem pathologisch-anatomischen Institut der Universität zu Helsingfors.]

Von Dr. med. **F. E. Hellström** in Helsingfors.

Mit 1 Figur.

Während meiner Untersuchungen über den Bakteriengehalt der finländischen Butter wurde gelegentlich eine Bakterienart gefunden, die sich durch gewisse Eigenschaften kennzeichnete, die es wünschenswert erscheinen ließen, ihr Aufmerksamkeit zu widmen und ihre wichtigsten Charaktere aufzuzeichnen.

In den verschiedenen Proben von alter Butter wurden gewöhnlich nur Oidium lactis und einige Saccharomyces-Arten gefunden. Es erregte deshalb mein Interesse sehr, als ich in Gelatineplatten, die einige Tage gestanden hatten, mehrere kleine Kolonieen entdeckte, die nicht den Sproßpilzen angehörten und sich besonders durch ihre außerordentliche Kleinheit auszeichneten. Ich unterwarf diese Mikroorganismen einer vorläufigen Untersuchung, und es hat sich bei derselben Folgendes ergeben:

Der betreffende Mikroorganismus ist ein Bacillus von 1,2—1,3 μ Länge und 0,2—0,3 μ Dicke. Bei Färbung kann man keine verschieden färbbaren Zonen in dem Protoplasma erkennen. Er hat eine ganz gerade Form mit abgerundeten Enden und ist ganz unbeweglich.

Das Wachstum dieses kleinen Stäbchens zeichnet sich besonders durch seine Langsamkeit aus.

In der Gelatine bleiben die Kolonieen im Inneren derselben etwa $^1/_2$ mm groß, sie sind kreisrund, mit scharfem Rand, von hellgelbem Farbenton und ohne jegliche sichtbare Struktur.

In Gelatinestichkulturen zeigt sich längs des ganzen Einstiches bis zum Boden, früher jedoch in der Nähe der Luft, eine durch isolierte kleine Kolonieen fein granulierte Entwickelung. Dieses Wachstum in der Gelatine ist erst nach 2—3 Tagen sichtbar und schreitet während mehrerer Wochen und Monate weiter fort. Längs des Einstiches bleibt jedoch die Entwickelung eine sehr begrenzte und behält ihr zartes, fein granuliertes Aussehen. Um die Einstichöffnung entwickelt sich während der ersten Tage ein durchscheinender, ausgebuchteter und unregelmäßiger Belag mit scharfem Rande. Mit der Zeit, oft erst nach mehreren Wochen, nimmt dieser Belag zu und erhält ein undurchscheinendes, graugelbes Aussehen bei fettglänzender Oberfläche und schmieriger Konsistenz. Das Wachstum um die Einstichöffnung breitet sich niemals über die ganze Oberfläche der Gelatine in Reagenzröhrchen aus, sondern erreicht seine maximale Größe bei einem Durchmesser von einigen Millimetern.

Die Gelatine wird nicht verflüssigt.

In der Ausstrichkultur auf Agar entstehen nach 24 Stunden bei Brüttemperatur mit dem unbewaffneten Auge kaum sichtbare, vereinzelt liegende Kolonieen, die nach mehreren Tagen heranwachsen und schließlich stecknadelkopfgroß werden. Sie sind halbkugelförmige, stark

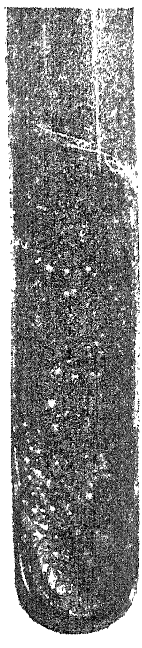
fettig glänzende, graugelbe und undurchscheinende, scharf begrenzte Kolonieen.

Die Entwickelung auf Agar breitet sich niemals zusammenfließend aus, sondern behält das Aussehen, wie es die nebenstehende Figur zeigt. Die Kolonieen wölben sich empor und nehmen eine beinahe halbkugelförmige Gestalt an.

Die nebenstehende Figur stellt eine Ausstrichkultur auf Agar nach 12-tägigem Wachstum, davon die ersten 24 Stunden bei Bruttemperatur, dar. (Die vordere Seite des Glases ist weggenommen, um den Glanz der Kolonieen besser hervortreten zu lassen.)

In Bouillon entsteht ein Wachstum nur auf dem Boden des Reagenzglases, der sich mit einem zähen, schleimigen, graugelben Satze bedeckt. Die oben stehende Flüssigkeit bleibt klar.

In Glukosebouillon erzeugt der Bacillus eine Säuerung erst nach einer längeren Zeit, ohne Gasbildung.



Die Milch wurde nicht koaguliert, dagegen erfolgte eine allmähliche Peptonisierung des Caseïns nach längerer Zeit.

Auf Kartoffeln entwickelt sich ebenso schnell wie auf Agar ein Belag von graugelber Farbe, körnigem Aussehen und begrenztem Umfange.

Auf Mäuse, Meerschweinchen und Kaninchen wirkt der Bacillus nicht pathogen.

Er färbt sich sehr schwierig oder so gut wie nicht mit wässerigen Farblösungen. Infolge der Ausscheidung einer schmierigen, fettartigen Masse, die die Bacillen umhüllt, kann man sie nur mit alkoholischen Farblösungen tingieren. Dessenungeachtet sind sie leicht zu entfärben und nach Gram nicht färbbar.

Der Bacillus entwickelt sich ein wenig besser bei Anwesenheit als bei Abschluß des Sauerstoffs. Er wächst im allgemeinen besser bei Körper- als bei Zimmertemperatur.

Sporenbildung ist nicht beobachtet worden.

Der Bacillus ähnelt dem von Pohl[1]) beschriebenen Bacillus flavescens, aber unterscheidet sich von diesem durch seine Unbeweglichkeit und die dadurch bedingten Wachstumsverschiedenheiten, ebenso durch seine geringe Größe. Er hat auch eine Aehnlichkeit mit dem von Zimmermann[2]) beschriebenen Bacillus subflavus, aber dieser Bacillus wächst nicht ohne Sauerstoffzutritt, bildet einen zusammenhängenden Belag über die ganze Agarfläche in Ausstrichkultur, trübt Bouillon und ist beweglich wie der Bacillus flavescens.

Ich habe diesem Bacillus den Namen Bacillus microbutyricus gegeben.

---

1) Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XI. 1892. p. 144.

2) Migula, System der Bakterien. Bd. II. Jena 1900. p. 823.

Reift der Hartkäse gleichmässig durch die ganze Masse oder von aussen nach innen?

Von Dr. Ed. v. Freudenreich,
Vorstand des bakteriologischen Laboratoriums der schweizer. landwirtschaftlichen Versuchs- und Untersuchungsanstalten.

Unter obigem Titel hat Prof. Dr. L. Adametz in No. 7 der österreichischen Molkereizeitung 1899 einen Artikel publiziert, in welchem er die Ansicht ausspricht, daß die Hartkäse von außen nach innen reifen, und zwar unter der Einwirkung von Mikroorganismen, die in der Rinde sich vermehren, und deren dort gebildete Diastasen die Käsemasse allmählich durchdringen sollen. Es würde somit der Reifungsprozeß bei Hartkäsen ganz analog verlaufen wie bei Weichkäsen. In einigen weiteren Artikeln vindiziert dann Adametz eine solche Rolle einer Tyrothrix-Art, der er den Namen Bacillus nobilis beilegt, und benutzt die Gelegenheit, um die von anderen Forschern verfochtene Ansicht, daß die Reifungserreger bei Hartkäsen nicht unter den sogenannten Tyrothrix-Bakterien, sondern unter den Milchsäurefermenten zu suchen seien, auf das heftigste zu bekämpfen [1]).

Die von Adametz in seinem ersten Artikel aufgeworfene Frage ist offenbar von großer Wichtigkeit; denn, wenn der Hartkäse von außen nach innen reift, so haben wir die Reifungserreger, wie es Adametz thut, auf der Oberfläche zu suchen und nicht im Innern der Käsemasse, wie bisher alle Forscher, welche sich mit diesem Problem beschäftigt, gethan haben. Ich hatte daher bereits im Jahre 1892, um für spätere Untersuchungen einen festen Boden zu gewinnen, dieselbe im Verein mit Dr. Schaffer dadurch zu lösen gesucht, daß ich Versuchskäse durch Einbettung in Quecksilber oder Paraffin gegen die äußere Luft abschloß und später untersuchte, ob unter diesen Bedingungen bei Ermangelung einer oberflächlichen Bakterienvegetation Reifung eingetreten war oder nicht [2]).

Von dem ersten in Paraffin eingebetteten Käse will ich hier ganz abstrahieren, weil die Oberfläche unter der Paraffindecke schmierig geworden und verfault war; man könnte daher die bei diesem Käse eingetretene Reifung der Einwirkung der auf der Oberfläche angetroffenen Bakterien zuschreiben. Der zweite und dritte Käse dagegen hatten eine von jeder Bakterienvegetation freie Oberfläche; der zweite war etwas bitter und gebläht, jedoch zeigte sein Geschmack deutliche Reifung; auch der dritte hatte Käsegeschmack, freilich den eines

1) Auf die bei diesem Anlaß gegen meine Person gerichteten Angriffe will ich hier nicht eingehen, da es nicht meine Gewohnheit ist, aus wissenschaftlichen Hypothesen und Theorieen persönliche Fragen zu machen.

2) Landw. Jahrbuch d. Schweiz. Bd. VI. p. 62.

noch jungen Emmenthalerkäses, da die Käse bei der Untersuchung erst 10 Wochen alt waren. Chemisch waren deutliche Reifungserscheinungen nachweisbar, Käse II enthielt 4,70 Proz. und Käse III 3,19 Proz. Eiweißzersetzungsprodukte. Hinzugefügt mag werden, daß der erwähnte Käse I ein ganz ähnliches Resultat ergeben hatte, nämlich 4,80 Proz. Eiweißzersetzungsprodukte.

Ich glaubte und glaube noch, daß hiermit die Frage entschieden sei. Prof. Adametz dagegen hält diese Versuche für völlig wertlos. Der Käse II z. B. kann nach ihm für die Beurteilung der vorliegenden Frage nicht herangezogen werden, weil er etwas bitter und gebläht war. Diese Ansicht kann ich unmöglich teilen, denn ein bitterer und etwas geblähter Käse kann trotzdem gereift sein. Bitterer Geschmack und zu zahlreiche Löcher sind unerwünschte Nebenerscheinungen, welche auf die Qualität des Käses von großem Einfluß sind, welche aber die Reifung, d. h. die allmähliche Lösung und weitere Zersetzung des Paracaseïns unter Umständen ganz gut begleiten können. Käse II nun war gereift, wenn auch nicht vollständig ausgereift, sein Geschmack und die chemische Analyse zeigten es deutlich, seine Oberfläche war frei von Bakterienwucherungen, und man muß daher annehmen, daß die eingetretene Reifung nicht von außen nach innen vorgegangen war, sondern gleichmäßig in der ganzen Masse platzgegriffen hatte. Ebenso verhielt es sich nach meiner Ansicht mit Käse III. Adametz jedoch meint, daß derselbe, weil er wie ein noch etwas junger Käse schmeckte, überhaupt kein „Käse und offenbar auch nicht im entferntesten einen Hartkäse-ähnlichen Geruch und Geschmack besaß“. Adametz glaubt dies daraus schließen zu dürfen, daß ich es nicht besonders hervorgehoben hätte. Eine solche Interpretation darf indessen mindestens als etwas frei bezeichnet werden. Wenn in der erwähnten Arbeit gesagt wurde, daß der betreffende Käse wie ein etwas junger Käse schmeckte, so war damit bloß gemeint, daß er mit einem jungen Emmenthalerkäse vergleichbar sei, was auch sein Alter erklärt und was eine ziemlich weit vorgeschrittene Reifung nicht ausschließt. Die Reifung hatte also begonnen und war bereits so weit vorgeschritten, wie man es von einem Käse in diesem Alter erwarten durfte. Ich glaube daher, daß auch dieser Versuchskäse zur Genüge beweist, daß bei Hartkäsen die Reifung ganz unabhängig von einer etwaigen Bakterienwucherung auf der Oberfläche vor sich geht. Ueber die Resultate der in meinen Augen sehr wichtigen chemischen Analyse setzt sich freilich Adametz mit großer Leichtigkeit hinweg, da für ihn, was Reifung eines Käses anbelangt, nur Geschmack und Geruch maßgebend, chemische Analysen, wie es scheint, ohne allen Wert sind. Ich bezweifle indessen, daß viele Forscher Adametz hierin folgen werden.

Nachdem Adametz unsere Versuche so scharf kritisiert hatte, wäre es zu erwarten gewesen, daß er zur Unterstützung seiner neuen Theorie seinerseits einige Versuche anführen würde; dieses ist indessen nicht der Fall. Er beschränkt sich darauf, sie mit Citaten aus der Litteratur und mit Aeußerungen einiger Praktiker zu begründen und an verschiedenen Partieen einiger Käse Geschmacks- und Geruchsprüfungen vorzunehmen. Die Frage scheint mir aber

wahrlich doch zu wichtig zu sein, um auf diese Weise entschieden zu werden. Ich habe daher, um den von Adametz erhobenen Einwänden zu begegnen, diese Frage von neuem experimentell geprüft. Bevor ich aber die Resultate dieser Untersuchungen mitteile, wollen wir uns zunächst die von Adametz angeführten Citate etwas näher ansehen.

Adametz giebt freilich zu, daß viele Forscher, die sich mit Milchwirtschaft beschäftigt haben, die Ansicht äußern, es gehe die Reifung bei Hartkäsen gleichmäßig in der ganzen Masse vor sich, so Fleischmann, Kirchner und ferner Schulze in seinen grundlegenden Arbeiten über die Reifung des Emmenthalerkäses. Dagegen citiert er mehrere Stellen aus Duclaux' Werken, aus denen sich ergeben soll, daß nach Ansicht dieses Forschers auch bei Hartkäsen die Reifung von außen nach innen erfolge. Nach meinem Dafürhalten spricht Duclaux nirgends diese Ansicht aus. Er geht freilich von dem Gedanken aus, daß die Tyrothrix-Bacillen die Haupterreger der Reifung sind, und da dieselben besonders luftbedürftig sind, so sagt er bezüglich des Edamerkäses, daß die Zersetzung des Caseïns natürlicherweise auf der Oberfläche ihren Anfang nehme, weil da die aëroben Bakterien sich am besten entwickeln können. Damit scheint er aber keineswegs sagen zu wollen, daß nun die weitere Reifung nur von außen nach innen vor sich gehe, wie das zum Teil bei Weichkäsen der Fall ist, denn dagegen sprechen manche andere Worte Duclaux'. So sagt er wenige Zeilen vorher bezüglich der Reifung des gleichen Käses: „La soudure se fait alors peu à peu sous l'influence des ferments qui existent dans la pâte[1]). Bei Besprechung der Reifungsvorgänge im allgemeinen sagt Duclaux: „à mesure qu'il (le sucre de lait) disparait, les ferments de la caséine reprennent peu à peu la direction du mouvement, saturent les dernières portions d'acide à l'aide de l'ammoniaque qu'ils produisent et à partir de ce moment la pâte leur appartient toute entière". Bezüglich des Emmenthalerkäses sagt er, daß man denselben in ein kälteres Lokal bringt, „pour que les ferments de la caséine agissent surtout par leur caséase et ne prennent pas trop activement possession de la pâte". Beim Granakäse spricht er, „des êtres qu'on a laissés dans la pâte", kurz, viele Stellen zeigen deutlich, daß nach Duclaux die Reifungsbakterien im ganzen Teige verteilt sind.

Wenn ferner Adametz bemerkt, daß er bereits in seinen „bakteriologischen Untersuchungen über den Reifungsprozeß der Käse" vom Jahre 1889 sich den Reifungsprozeß der Hauptsache nach als von außen nach innen verlaufend vorgestellt habe, so steht dieses, wie mir scheint, im Widerspruche mit dem Resultat des Versuches, den Adametz selber bezüglich der Einwirkung des Luftzutrittes damals angestellt hatte. In der erwähnten Arbeit sagt er nämlich, daß ein unter Paraffinschicht gehaltener Käse nach 6 Wochen schöne Lochbildung und schwachen Käsegeruch hatte. Da Adametz und andere Forscher auf letzteren so viel Gewicht legen, so wäre das ein

1) Principes de laiterie. p. 334.

Beweis, daß, trotzdem die Oberfläche rein, weiß und frei von jeder Schimmelvegetation war, also von außen keine Reifung erfolgen konnte, doch eine, wenn auch verzögerte, Reifung platzgegriffen hatte. Diese Verzögerung ist überdies leicht erklärlich, denn solche Käse können die Molken nicht abgeben, und die zu starke Säurebildung muß die weitere Thätigkeit der Reifungsbakterien verlangsamen. Auch sagt er an einer anderen Stelle, daß er beim Emmenthalerkäse zwischen den Randschichten und den tiefer im Inneren befindlichen Schichten einen auffallenden bakteriologischen Unterschied nicht aufzufinden vermochte, was doch der Fall gewesen wäre, wenn die Tyrothrix sich in der Rinde stark vermehren sollten.

Weiter citiert Adametz die Ansicht Bächler's, der in der That in der angeführten Arbeit vom Jahre 1895 die Ansicht von Adametz vollständig zu vertreten scheint. Diese Ansicht stützt Bächler auf seine Beobachtungen in der Praxis, jedoch scheint er die Notwendigkeit von Versuchen in dieser Richtung einzusehen, die allein die Frage entscheiden können, da er seinen Artikel mit den Worten schließt: „Es sollte uns freuen, wenn unsere Darlegungen zu Versuchen auch nach dieser Richtung hin Veranlassung bieten würden."

Großen Wert scheint endlich Adametz auf die Meinung einiger Käsehändler, die er bezüglich dieser Punkte befragen ließ, zu legen, da die beiden konsultierten Praktiker erklären, der Käse reife von außen nach innen. Diese Meinungsäußerungen sind jedoch in meinen Augen von geringem Belange in der uns beschäftigenden Frage, denn aus den bezüglichen Antworten sieht man, daß diese Praktiker unter Reifung etwas ganz anderes verstanden haben, als dasjenige, um was es sich eigentlich handelt; sie verstehen nämlich darunter die Einwirkung des Salzens, wie folgende Worte zeigen: „Der Käse reift von außen nach innen, da die Behandlung mit Salz und auch der Temperatureinfluß von außen stattfindet".

Zum Schluß führt Adametz noch das Resultat der Untersuchung einiger Greyerzerkäse an, die in verschiedenen Stadien der Reifung angeschnitten wurden. Stets habe sich herausgestellt, daß die Reifung am Rande begonnen habe, wie Geschmack, Geruch und das durchscheinende Aussehen des Teiges bewiesen hätten.

Ich meinerseits habe viele Käse in allen möglichen Stadien der Reifung angeschnitten. Dabei habe ich freilich auch beobachtet, daß die Rindenschicht sich dunkler färbt als das Innere und wohl auch schärfer schmeckt. Jedoch soll man dieses nicht mit der eigentlichen Reifung verwechseln, Austrocknen und Salzen sind hauptsächlich der Grund dieser Erscheinung. Wäre dieses wirklich der Anfang der eigentlichen Reifung, so würde dieser Prozeß, wie dies bei Weichkäsen beobachtet wird, auch allmählich nach innen in sichtbarer Weise fortschreiten. Dies ist aber, so viel ich beobachtet habe, nie der Fall; unterhalb der dünnen, durchscheinenden Randschicht ist die ganze Masse von gleicher Beschaffenheit und dieselbe reift gleichmäßig durch. Viele erfahrene Käser und Praktiker, die ich befragt habe, sind auch ganz dieser Meinung.

Manche Erwägungen sprechen überdies gegen die Adametz'sche

Theorie. Wenn wirklich bei Hartkäsen die Reifung der Thätigkeit der auf der Oberfläche sich entwickelnden Bakterien zuzuschreiben wäre, so wäre nicht einzusehen, warum man gerade diese Käse so behandelt, wie wenn man jede Bakterienentwickelung auf der Außenseite erschweren wollte; bekanntlich werden die Käse zunächst gesalzen, was antiseptisch wirkt, und dann in der Folge sorgfältig mit Salzwasser abgewaschen und gut abgerieben. Mit der Zeit wird ja die Kruste so hart und trocken, daß sie in der Folge kaum mehr der Sitz einer fortdauernden Bakterienvegetation sein kann.

Ganz anders verhält es sich z. B. mit den Limburgerkäsen, bei welchen wirklich ein von außen nach innen verlaufender Prozeß zu beobachten ist und durch das sogenannte „Schmieren“ die Bakterienentwickelung auf der Oberfläche begünstigt wird.

Auch die verschiedenartige chemische Zusammensetzung der Weich- und Hartkäse spricht gegen die neue von Adametz aufgestellte Theorie. Bekanntlich findet man in Weichkäsen am meisten eiweißartige Substanzen in löslicher Form, während die weitere Zersetzung des Caseïns wenig Fortschnitte gemacht hat; in den Hartkäsen dagegen findet man weniger löslich gemachte stickstoffhaltige Substanzen, die Menge der Eiweißzersetzungsprodukte ist aber viel größer. Ginge nun bei beiden Käsearten der Reifungsprozeß von außen nach innen vor sich, so bliebe es unbegreiflich, daß die intensivere Wirkung, d. h. die stärkere Zersetzung des Caseïns gerade bei dem Hartkäse sich zeigt, bei welchem doch augenscheinlich dieser von außen nach innen fortschreitende Reifungsprozeß am wenigsten sichtbar und ausgeprägt ist. Spricht dieses nicht gerade dafür, daß der Vorgang der Reifung bei diesen beiden Käsearten zum Teil ein ganz anderer ist?

Indessen sind dieses lauter Erwägungen, und auf solche kommt es nicht an. Ich gehe daher über zu den Versuchen, die den Gegenstand vorliegender Arbeit bilden.

Da die Adametz'sche Theorie ganz und gar auf der Annahme beruht, daß die Tyrothrix-Bacillen sich reichlich in der Rinde vermehren, so hätte man mit Recht erwarten dürfen, daß Adametz vor allem diese Thatsache durch Versuche feststellen würde. Indessen fehlt in seiner Arbeit jede Angabe über diesen wichtigen Punkt. Nachdem er zugegeben hat, daß, wie ich öfters betont habe, die stark aëroben Tyrothrix-Bakterien im Käseinneren nicht zahlreich und quantitativ bedeutend hinter den Milchsäurefermenten zurückstehen, sagt er, daß man sie deshalb nicht da suchen solle. Dagegen komme für ihre üppige Vermehrung und für eine reichliche Enzymbildung auf der Rinde der Hartkäse der leichte Luftzutritt und die in der Rinde vorhandene geringere Milchsäuremenge in Frage, und es ergebe sich aus diesen Erwägungen mit logischer Notwendigkeit, daß die Rinde der Hartkäse nach Emmenthalertypus für die aërobischen Tyrothrix-Bakterien recht günstige Daseinsbedingungen biete. Hier helfen aber logische Schlüsse und Erwägungen nicht; nur Thatsachen und Experimente können in Betracht fallen.

Da nun Adametz in seiner Arbeit keine einzige Zählung von

Tyrothrix-Bakterien in der Rinde von Hartkäsen anführt, so schien es mir vor allem erforderlich zu sein, über diesen Punkt Aufklärung zu gewinnen, und zu diesem Zwecke untersuchte ich 7 verschieden alte Emmenthalerkäse. Die Untersuchung geschah in der Weise, daß Abschabsel der oberflächlichen Schicht des Käses in steriler Bouillon verrieben und zu Platten ausgegossen wurden.

Wie man aus den Resultaten nachstehender Untersuchungen entnehmen kann, zeigte sich die Rinde stets sehr arm an verflüssigenden Bacillen:

1. Vier Wochen alter Emmenthalerkäse.

Die Rinde ist sehr bakterienreich, 350000000 per Gramm. Auf keiner der angelegten 5 Platten finden sich Tyrothrix-Kolonieen vor, sondern nur Kokkenkolonieen, feste und verflüssigende. Erstere sind in der Mehrzahl, letztere sind teils weißlich, teils gelblich; auch Kolonieen eines sehr großen, verflüssigenden Coccus, den ich einst in der Schmiere von Limburgerkäsen angetroffen habe, finden sich vor.

Ein sterilisiertes Caseïn enthaltender Kolben dagegen, mit dem ganzen Reste der Emulsion gemischt, ging in Fäulnis über, und in demselben fanden sich dann auch verflüssigende Bacillen vor. Letztere waren also in der Rinde zwar vorhanden, aber jedenfalls nur in geringer Zahl, da sie nur durch eine Anreicherungsmethode nachzuweisen waren. Eine Vermehrung derselben in der Rinde war in diesem Zeitpunkte jedenfalls ausgeschlossen [1]).

2. Zwei und einen halben Monat alter Emmenthalerkäse.

Die Platten geben einige Schimmelpilze, sehr viele Kolonieen eines oïdiumartigen Organismus und einige Kokkenkolonieen, verflüssigende und nicht verflüssigende. Verflüssigende Tyrothrix-Bacillen fanden sich nur bei Anwendung des oben beschriebenen Anreicherungsverfahrens.

3. Vier verschiedene Käse, zwei bis drei Monate alt.

Alle diese Käse geben den oïdiumartigen Organismus in großer Menge; daneben verflüssigende Kokken und nicht verflüssigende Bakterien. Auf keiner Platte wuchsen Kolonieen verflüssigender Bacillen; sie waren nur durch das Anreicherungsverfahren nachweisbar. Diese vier gleich alten Käse waren auf der Molkereischule Rütti hergestellt worden; sie waren miteinander gesalzen und behandelt worden, was leicht begreiflich macht, daß auch die Bakterienflora ihrer Rinde die gleiche war.

4. Guter Marktkäse, vollständig ausgereift.

Die Platten geben nur verflüssigende Kokkenkolonieen und Bact. lactis acidi.

1) Milchzuckergelatineplatten gaben 190000000 Bakterien per Gramm, und zwar auch Hefekolonieen (10000000 Hefekolonieen und 31000000 verflüssigende Kokken; der Rest bestand aus nicht verflüssigenden Bakterienkolonieen). Das Innere dieses Käses enthielt 45000000 Bakterien per Gramm, lauter Milchsäurefermente.

Wie man sieht, ist das Resultat bei allen 7 Käsen bezüglich des Vorkommens verflüssigender Tyrothrix-Arten ganz übereinstimmend; stets waren sie äußerst spärlich vorhanden. Für mich ist es daher ganz undenkbar, daß ihre in der Rinde gebildeten Diastasen die Reifung bewerkstelligen sollten; wäre dieses der Fall, so müßte man sie in größerer Zahl in der Rinde antreffen. Eher wäre eine solche Rolle den zahlreich vorhandenen Kokken zuzuschreiben, wenn nicht die sogleich zu besprechenden Versuche mit dem gegen die Luft abgeschlossenen Käse zeigten, daß die Reifung auch stattfindet, wenn keine Bakterienvegetation auf der Oberfläche stattfindet.

Das Resultat der bakteriologischen Untersuchung der Rinde mag auf den ersten Blick befremdend erscheinen, da ja Adametz uns versichert hat, daß die Tyrothrix-Bacillen in der Rinde so günstige Lebensbedingungen vorfinden, namentlich Luft und dann auch die in der Rinde geringere Milchsäuremenge. Was hier Adametz über das Luftbedürfnis der Tyrothrix-Bakterien sagt, ist richtig; anders aber verhält es sich mit seiner Behauptung, daß diese Bakterien in der Rinde einen weniger sauren Nährboden finden. Hätte Adametz die Säure in der Rinde und im Inneren eines Käses titriert, so hätte er gefunden, daß sowohl bei Hartkäsen wie bei Backsteinkäsen die Rinde immer einen höheren Säuregrad aufweist als das Innere und zwar infolge der an der Oberfläche mit der Zeit stärker werdenden Zersetzung des Fettes. Wenn also auch die Logik der Adametz'schen Erwägungen weniger Milchsäure in der Rinde als im Inneren erfordert, so ändert das nichts an der Thatsache, daß die Rinde säurereicher ist und daher gerade den Tyrothrix-Bakterien, die gegenüber den Säuren ziemlich empfindlich sind, keinen günstigen Nährboden gewährt[1]).

Nun aber gehen wir über zu den Resultaten der Versuche mit den gegen die äußere Luft geschützten Käsen. Dieselben wurden aus je 10 l Milch hergestellt und ganz wie Emmenthalerkäse bearbeitet. Zum Dicken der Milch brauchte man Naturlab. Sie waren ungefähr 5—6 cm hoch und hatten einen Durchmesser von 15 cm. Sie wurden 24 Stunden unter der Presse gelassen und kamen dann für 24 weitere Stunden in ein etwa 20-proz. Salzbad. Ein Käse wurde durch Quecksilber gegen die äußere Luft abgeschlossen, die anderen wurden in Paraffin eingebettet; letzteres Verfahren hat aber den Nachteil, daß der Geschmack der Käse etwas darunter leidet. Einmal auch wurde ein Käse vor der Einbettung in Paraffin für 5 Minuten in ein 5-proz. Formalinbad eingetaucht, um die Oberfläche sicher zu sterilisieren. Um den von Adametz gegen die früheren Versuche erhobenen Einwänden zu begegnen, wurden die Käse dieses Mal erst nach 4 bis 5 Monaten untersucht.

Die Resultate dieser Versuche waren nun folgende:

Käse A vom 24. Oktober 1899. Quecksilberabschluß. Dieser Käse wurde am 13. März 1900 untersucht, also nach beinahe 5 Monaten. Die Oberfläche ist weißlich und frei von jeder Bakterien-

1) Die hier angegebenen Säureverhältnisse in Rinde und Käseinnerem sind in einer später hier erscheinenden Arbeit von Herrn Orla Jensen eingehend besprochen.

wucherung. Er ist trockener als die anderen Versuchskäse. Gute Lochung. Geschmack unverkennbar derjenige eines Emmenthalerkäses. Geruch identisch mit dem Geruch der inneren Masse eines Emmenthalerkäses, ein Geruch, der aber nach meiner Ansicht sehr verschieden ist von dem Geruch der Rinde.

Die bakteriologische Untersuchung ergab das Vorhandensein der gewohnten Milchsäurefermente. Verflüssigende Kolonieen fand man auf den Gelatineplatten nicht.

Die chemische Analyse beschränkte sich auf die Bestimmung des Stickstoffes der löslichen Proteïnstoffe und des Stickstoffes der Zersetzungsprodukte in Prozenten des Gesamtstickstoffes ausgedrückt. Man fand 25 Proz. löslichen Stickstoffes und 9,02 Proz. Zersetzungsstickstoffes [1]).

Käse B vom 24. Oktober 1899. Dieser Käse erhielt vor dem Laben einen Zusatz von 10 ccm Bouillonkultur eines mit Weigmann's Paraplectrum foetidum verwandten, wenn nicht identischen anaëroben Bacillus und einer Agarkultur von Tyrothrix tenuis Duclaux. Es sollte untersucht werden, ob unter diesen Bedingungen die genannten Bakterien sich entwickeln würden. Der Käse war vor dem Einbetten in Paraffin in ein Formalinbad gebracht worden.

Untersuchung vom 14. März 1900. Die Oberfläche ist rein weiß, mit Ausnahme zweier Stellen in der Paraffinschicht. Die eine Stelle ist bedeckt mit einer dürftigen Schimmelpilzvegetation. Diese Vegetation bedeckt etwa den vierten Teil der oberen Fläche des Käses. Von einem Eindringen in die Käsemasse ist keine Rede. Die zweite Stelle ist viel kleiner, nur ein paar Quadratcentimeter weit, und grau verfärbt. Unmittelbar unter dieser Stelle, ca. $^1/_4$ cm, schmeckt der Käse schlecht und bitter; weiter aber dringt dieser Geschmack nicht ein und ist, wie gesagt, auf eine ganz kleine Stelle beschränkt geblieben.

Gelatineplatten der grau verfärbten Stellen bleiben steril; ich glaube daher, daß hier ein beschränktes Wachstum des anaëroben Bacillus stattgefunden hatte. (Vergl. dieses Centralblatt. Bd. IV. Abschnitt V. p. 226.) Abgesehen von dieser kleinen Stelle ist die ganze innere Masse schön weiß-gelblich, gut gelocht und hat ganz Emmenthalerkäse-Geschmack und -Geruch wie der vorige. Der Käse ist aber stärker wasserhaltig als der vorige. Die Gelatineplatten geben einige Kolonieen der eingeimpften Tyrothrix wieder, sonst nur Milchsäurefermente.

Die chemische Untersuchung gab 29 Proz. löslichen Stickstoffs und 12,13 Proz. Zersetzungsstickstoffs.

Käse vom 25. Oktober 1899. Paraffinverschluß. Am 26. Dezember wurde ein Teil der Paraffindecke abgehoben. Die Oberfläche des Käses ist rein weiß. Der Käse wird nun an der freigelegten Stelle wieder mit flüssig gemachtem Paraffin übergossen. Am 12. März

1) Diese Ausdrücke gebrauche ich der Kürze halber, statt „Stickstoff der löslichen Proteïnstoffe" und statt „Stickstoff der Zersetzungsprodukte". Für letzeren habe ich früher auch den Ausdruck „Amidstickstoff" gebraucht.

1900 wurde dann der Käse genau untersucht. Von der am 26. Dezember freigelegten Stelle aus hat sich auf der oberen Fläche und auf einem Teil der Wandungen eine Schimmelpilzvegetation gebildet, die aber gar nicht eingedrungen ist. Bakterienauflagerungen sind nicht vorhanden. An der betreffenden Stelle an der Oberfläche haben sich nur Schimmelpilze entwickelt, wie die Platten zeigen. Etwas starke Lochung, noch sehr wasserhaltig. Geschmack und Geruch eines Emmenthalerkäses. Auf den Platten wuchsen nur Milchsäurefermente und ein dem Bacillus Schafferi ähnlicher Bacillus.

Die chemische Untersuchung ergab 31,98 Proz. löslichen Stickstoffs und 15 Proz. Zersetzungsstickstoffs.

Käse vom 4. November 1899. Paraffinverschluß. Untersuchung am 27. Februar, also nach ca. 4 Monaten. An einer Stelle der unteren Randpartie hat sich etwas Flüssigkeit angesammelt und der Teig sich da etwas rötlicher verfärbt; diese schadhafte Stelle hat indessen nicht weiter um sich gegriffen und ist auch nicht in das Innere eingedrungen. Beim Abheben der Paraffinschicht zeigt sich der Käse an allen anderen Stellen schön weiß und ist frei von jeder Bakterienwucherung. Das Innere ist leicht gelblich, hat schöne Löcher, die bis dicht unter der Oberfläche sich befinden. Der Teig ist ziemlich wasserhaltig, daher wie die anderen unter Paraffin gehaltenen Käse weicher als ein normal gereifter Emmenthaler, aber der Geschmack ist ganz derjenige des Emmenthalers, wenn auch leicht bitter, ebenso wie der Geruch. Auf den Platten erhält man keine verflüssigenden Kolonieen; man findet das Bact. lact. acidi und Bac. ε.

Die chemische Untersuchung ergiebt 31,09 Proz. löslichen Stickstoffs und 9,88 Proz. Zersetzungsstickstoffs.

Bei allen diesen Käsen haben wir also eine von Bakterienwucherungen freie Oberfläche; denn die bei dem Käse B beobachtete kleine graue verfärbte Stelle, welche keinerlei aërobe Bacillen enthielt, kommt wohl nicht in Betracht, ebensowenig wie die rötliche Stelle bei dem Käse vom 4. November. Der Käse A war absolut frei von jeder oberflächlichen Bakterien- oder Pilzwucherung, und die wenigen spärlichen Schimmelpilze, die auf einigen Käsen sich entwickelten, können auch hier nicht in Betracht fallen, da, so viel ich weiß, es noch Niemandem eingefallen ist, die Reifung der Emmenthaler Hartkäse auf die Wirkung dieser Mikroorganismen zurückzuführen. Alle diese Käse nun haben in chemischer Beziehung eine Reifung durchgemacht, die vollständig analog ist derjenigen der Hartkäse (Bildung einer erheblichen Menge von Zersetzungsprodukten); was die Menge der löslichen Proteïnstoffe und der Zersetzungsprodukte anbetrifft, verhalten sie sich ganz ähnlich wie gleich alte, normal gereifte Emmenthalerkäse. So z. B. fand ich in einem zum Vergleiche herangezogenen, genau 4 Monate alten Emmenthalerkäse 32 Proz. löslichen und 12,55 Proz. Zersetzungsstickstoffs. Die Differenzen zwischen den Versuchskäsen untereinander und mit letzterem erklären sich wohl aus Unterschieden im Wassergehalt, der natürlicherweise auf den Gang der Reifung nicht ohne Einfluß ist.

Ferner war bei allen diesen Käsen unverkennbar der spezifische

Geschmack des Emmenthalerkäses in hohem Maße vorhanden. Daß dieses nicht bloß von mir selber, sondern von anderen kompetenten Personen konstatiert wurde, ist selbstverständlich. Auch der Geruch war derjenige des Teiges eines Emmenthalerkäses. Ich werde zwar nicht behaupten, daß sie mit Primakäsen vergleichbar gewesen seien. Schon die infolge des hohen Wassergehaltes etwas zu weiche Konsistenz des Teiges verhindert uns, sie auf gleiche Stufe zu stellen wie große, in normaler Weise ausgereifte Käse, auch hatte sich ein leichter Beigeschmack den in Paraffin eingebetteten Käsen mitgeteilt; sonst aber trug die Reifung ganz und gar den Typus dieses Prozesses bei echten Emmenthalerkäsen.

Damit wäre nach meiner Ansicht die so wichtige Frage, ob die Käse von außen nach innen reifen oder ob die Reifung gleichmäßig im Inneren vor sich gehe, im Sinne meiner zur Zeit in Gemeinschaft mit Schaffer und von Adametz in so herber Weise kritisierten Versuche entgiltig entschieden.

Die Unhaltbarkeit der von Adametz aufgestellten Hypothese ergiebt sich ferner aus den Resultaten der Untersuchungen Orla Jensen's über die chemische Zusammensetzung verschiedener Käsepartieen[1]). Es wurden 3 Partieen eines $2^1/_2$ Monate alten Käses untersucht, die äußerste, 2 mm dicke Rindenschicht, die unter der Rinde nächstfolgende 10 mm dicke Schicht und die innerste Käsemasse. In der ersten Partie fand Jensen 19,81 Proz. löslichen Stickstoffs, 5,81 Proz. Zersetzungsstickstoffs und 0,79 Proz. Ammoniakstickstoffs; die Partie unter der Rinde hatte 23,35 Proz. löslichen Stickstoffs, 8,88 Proz. Zersetzungsstickstoffs und 1,15 Proz. Ammoniakstickstoffs; die innerste Masse dagegen hatte 28,96 Proz. löslichen Stickstoffs, 10,53 Proz. Zersetzungsstickstoffs und 1,60 Proz. Ammoniakstickstoffs. Ganz ähnliche Verhältnisse fand Jensen bei einem 5 Monate alten Käse. Diese Zahlen zeigen deutlich, daß im Inneren mehr Reifungsprodukte enthalten sind als nahe bei der Rinde, was doch nicht der Fall wäre, wenn sie von außen her einwanderten. Ich weiß zwar, daß Adametz dieses gerade zu Gunsten seiner Theorie deutet, indem er auf die Untersuchungen von Schulze und Benecke über Kochsalz im Käse sich beruft. Die genannten Forscher haben nämlich gefunden, daß das Innere der Käse mehr Kochsalz enthält als die Rinde, indem dasselbe von außen durch die Rinde diffundiere und sich im Inneren anhäufe. So sollen denn auch nach Adametz die in der Rinde gebildeten Zersetzungsprodukte nach innen diffundieren und sich dort anhäufen. Diese Erklärung trifft indessen nicht zu, wie aus den Untersuchungen von Orla Jensen sich ergiebt. Es mag ganz richtig sein, daß bei einem älteren Käse mehr Salz im Inneren als in der Rinde sich findet. Dieses erklärt sich leicht aus dem Umstande, daß mit der Zeit durch das Abwaschen und Abreiben die Rinde an Salz ärmer wird. Daß aber nicht Diffusionsvorgänge hier zu Hilfe gezogen werden brauchen, zeigen die von Orla Jensen gefundenen Zahlen. In einem $2^1/_2$ Monate alten Käse untersuchte er die Rinde, die unter der Rinde liegende Schicht

1) Vide die hier später erscheinende Arbeit „Studien über die Enzyme im Käse“.

und das Innere. In der Rinde fand er 1,96 Proz. Kochsalz (auf die Käsemasse berechnet), 2,22 Proz. in der unter derselben liegenden Schicht und 1,75 Proz. im Innern. In einem zweiten Käse fand er in der Schicht unter der Rinde 2,04 Proz. und im Inneren 1,39 Proz. Kochsalz. Also ist das Innere stets ärmer an Salz als die Partieen unmittelbar unter der Rinde; bei jungen Käsen, die noch gesalzen werden, ist auch die Rinde selber kochsalzreicher als das Innere. Verhielte es sich mit den Zersetzungsprodukten wie mit dem Salz, d. h. würden sie, wie Adametz meint, von der Rinde nach innen wandern, so müßten die unter der Rinde gelegenen Partieen nach Obigem reicher daran sein als das Innere. Ist dieses nun nicht der Fall, wie wir gesehen haben, d. h. ist gerade das Innere reicher an Zersetzungsprodukten, so ist das gerade ein Beweis, daß die Reifungsprozesse im Inneren am energischsten vor sich gehen.

Am Schlusse seiner zweiten Arbeit stellt Adametz noch eine Reihe von Fragen an mich, von welchen er meint, daß sie sich nur auf Grund seiner Theorie in befriedigender Weise beantworten lassen. Da indessen mit der Thatsache, daß gegen die äußere Luft abgeschlossene Käse, ohne Bakterienwachstum auf ihrer Oberfläche, vollständig reifen, die ganze von Adametz aufgebaute Theorie zusammenfällt, so kann ich den Lesern dieses Centralblatts füglich die Mühe ersparen, sich mit diesen Detailfragen weiter zu befassen. Uebrigens habe ich, um dem Wunsche Adametz' nachzukommen, an anderer Stelle seine Fragen in ausführlicher Weise beantwortet[1].

Ueber Reduktion von Sulfaten in Brackwasser durch Bakterien.

Von Dr. **R. H. Saltet**, Prof. d. Hygiene a. d. Universität zu Amsterdam.

(Schluß.)

Das Mohr'sche Salz hatte also in Gegenwart von Alkalien zugleich als Quelle für die SH_2-Bildung und als Indikator gedient.

Beijerinck betrachtet seine Untersuchung nicht als eine endgiltige[2], weist auf die Schwierigkeit einer Reinkultur absoluter Anaëroben in Flüssigkeiten hin und läßt die Frage, ob nicht andere Bakterien Sulfate reduzieren können, unentschieden. Er nennt den von ihm aufgefundenen Organismus Spirillum desulfuricans.

Trotz aller erwünschten Klarheit leuchtet aus seiner Publikation nicht hervor, daß andere Quellen für die Bildung des SH_2 bei seinen Untersuchungen ausgeschlossen gewesen seien[3]. So hat er nicht bewiesen, daß das von ihm ausgewaschene Agar durchaus kein S mehr enthielt, z. B. in Eiweiß, und er mußte, um seine Kultur aufzusetzen, ein vermutlich kleines Quantum der Vorkultur mit dem Agar oder

1) Landw. Jahrbuch d. Schweiz. 1900. Heft 6.
2) l. c. p. 113.
3) l. c. p. 110.

der Gelatine überimpfen; auch hierdurch kann anderes Schwefel enthaltendes Material als Sulfat einem leicht daraus SH_2 bildenden, aber Sulfate nicht angreifenden Organismus zur Verfügung gestellt werden und die Schwefeleisenbildung auch ohne Reduktion des Sulfates erklärt werden. Näheres war also, auch nach Beijerinck selber, zu erwarten.

Soweit mir bekannt ist, hat dieser Untersucher über Spirillum desulfuricans nähere Mitteilungen nicht veröffentlicht; in seiner letzten Abhandlung[1]) sagt er jedoch, daß Spirillum desulfuricans sich als: „das Agens der Sulfatreduktion in unseren Stadtgräben herausgestellt hat“. In dieser Abhandlung sagt er auch, daß die „Bleiweißprobe“, die Mischung von Agar oder Gelatine mit Bleiweiß, eine gute Methode sei, die sulfidbildenden Bakterien in einem Gemenge nachzuweisen, da die durch Bleisulfide schwarzen Kulturen auf dem weißen Untergrunde sich leicht kenntlich machen, und in einer Note auf p. 203 teilt er mit, daß im Agar des Handels durch dieses Verfahren sehr gut die Anwesenheit von Eiweiß zu konstatieren sei. Er giebt sogar eine Methode an, das Eiweiß aus Agar zu entfernen, welche darauf beruht, daß das Material einem Fäulnisprozeß ausgesetzt wird.

Die Fäulnisprodukte können dann schließlich mit destilliertem Wasser ausgewaschen werden. „Ein solches Präparat giebt dann überhaupt keine Veranlassung mehr zur Sulfidbildung“, aber „ein solches Präparat“ war nach Beijerinck's Beschreibung nicht die Agarlösung, die er im Jahre 1895 verwendet hatte. Der Zweifel an dem Vermögen des Spirillum desulfuricans, aus Sulfat direkt Sulfid zu machen, ist also, trotz des ersten Satzes von Beijerinck's letzter Abhandlung, nach der Beschreibung seiner eleganten Bleiweißprobe noch in höherem Grade berechtigt.

Der Zustand der Stadtgräben in Amsterdam ist zwar seit Mulder's Untersuchungen bedeutend besser geworden. Das Y hat man zum größten Teil trocken gelegt, ein mittels Schleusen von der Nordsee und der „Zuiderzee“ abgeschlossener Kanal verbindet den Amsterdamer Hafen mit diesen Gewässern und regelmäßig wird „Zuiderzee“-wasser in die Stadtgräben gelassen, welches, nachdem es durch einen bedeutenden Teil der Stadt geströmt, wieder in den Hafen abgeführt wird, durchschnittlich etwa 300000 cbm in der Nacht. Hierdurch bleibt das sulfathaltige Wasser kürzere Zeit mit dem schlammigen Boden der Gräben in Berührung und wird gewiß auch die Temperatur der Gräben niedriger, so daß Gärungen nicht so leicht vorkommen. Material zur Untersuchung der Ursachen der Sulfatreduktion in unseren Gräben ist jedoch noch leicht genug zu erhalten. Dazu fülle man im Sommer nur Flaschen mit Schlamm und Grabenwasser und befestige darauf einen Kugelapparat nach Arendt und Knop mit Bleiacetatlösung mittels eines Stöpsels und nach einiger Zeit wird ein schwarzer Niederschlag von Bleisulfid entstehen. Hat man das Grabenwasser zuvor filtriert, so daß keine Schlammteilchen in die Flasche geraten, so hat sich H_2S nirgends entwickelt. Damit

1) Centralbl. f. Bakt. etc. 2. Abt. Bd. VI. 1900. p. 193.

sei natürlich nicht behauptet, daß das Resultat immer dasselbe sein müßte. Ich ließ einmal eine Flasche mit Grabenwasser und Schlamm monatelang im Laboratorium sehen, ohne daß die schwarze Färbung des Bleiacetats wahrgenommen werden konnte, und ich kann mir auch denken, daß stellenweise das Grabenwasser aus Fabriken und Wohnhäusern Verbindungen aufgenommen haben wird, die ohne Mitwirkung der Gärungen im Schlamm Schwefelwasserstoff entwickeln können.

Ich habe letzteres noch nicht wahrgenommen. Es ist hier ein Thema zur Erforschung geboten und ich habe Herrn C. S. Stokvis vor etwa 2 Jahren daher den Rat gegeben, diesen Gegenstand für seine Dissertation auszuarbeiten, was er auch in meinem Laboratorium gethan hat [1]).

Er züchtete aus Grabenwasser und Schlamm in Klein's Apparat zur Herstellung von Anaërobionten [2]) sowohl auf Gelatineplatten als in Röhrchen (mit NaCl 12 g, ClK 1 g, $MgSO_4$ 1 g, Glykose 0,5 g, Asparagin 1 g, HNa_2PO_4 40 mg, destilliertem Wasser 1000) durch die Verdünnungsmethode eine Anzahl Bakterien, die sich als fakultative Anaërobionten herausstellten. Er nahm weiter wahr, daß ein Fläschchen mit einem Gemenge von Grabenwasser und Schlamm, bei welchem der Schwefelwasserstoff-Geruch sich deutlich zu erkennen gab, nachdem es während einer Stunde in einem Wasserbade von 80° C gestanden, dieses H_2S verloren hatte; auch später bildete sich kein H_2S mehr. Außer dieser Geruchswahrnehmung wurde auch Nitroprussidnatrium in 1-proz. Lösung und NH^3 verwendet.

Setzte er nun einem solchen pasteurisierten Fläschchen ein wenig Bouillonkultur eines der früher erwähnten fakultativen Anaërobionten zu, so entstand nach einiger Zeit, z. B. 14 Tagen, wiederum H_2S. Das Experiment ist nicht ganz korrekt (s. oben), weil Stokvis meistens Bouillonkulturen und nur dann und wann andere Kulturstoffe ohne eiweißartige Körper verwendet hat.

Der nämliche Organismus, eine Stäbchenbakterie, kann in der oben erwähnten Sulfatflüssigkeit, wie dieselbe für die Verdünnungskulturen angewendet wurde, Schwefelwasserstoff nicht entwickeln. Es entstand ein wenig Gas, aber Bleiacetat in einer Absorptionskugel wurde dadurch nicht schwarz gefärbt. Dann wurde versucht, zu erforschen, ob der Organismus vielleicht Sulfit in Sulfid verändern könnte und dazu in einer Flüssigkeit mit 12 g ClNa, 1 g KCl, 30 mg Na_2HPO_4, 1 g Mg SO_4, 1,5g Na_2SO_3, 0,5 g Glykose, 1 g Asparagin, 1000 destilliertem Wasser, worin die Bakterie gut wuchs, mit Nitroprussidnatrium untersucht, ob sich H_2S gebildet hat, es stellte sich aber heraus, daß solches nicht der Fall war [3]).

Weiter wurden noch folgende Proben gemacht. Ein Gemenge

---

1) Bijdrage tot verklaring der zwavelwaterstofvorming in het Amsterdamsche grachwater. [Academisch proefschrift.] 1899. 82 pp.

2) Centralbl. f. Bakt. etc. 1. Abt. Bd. XXIV. 1898. No. 25. p. 967.

3) In der Sitzung des „Nederlandsch Natuur en Geneeskundig Congres" des Jahres 1899 habe ich bei meiner Ankündigung der Untersuchung von Stokvis irrtümlich auch mitgeteilt, daß das Bakterium aus Thiosulfat und Pepton nicht H_2S bilden könne. Stokvis hat die Wirkung seines Bacillus auf diese Verbindungen nicht untersucht.

von Grabenwasser und Schlamm, bei 110° sterilisiert, ergab mit ein wenig Bouillonkultur des Bacillus keine Reaktion auf H_2S. Nach Erwärmung einer Grabenwasser-Schlammmenge in 20 Probiergläschen verteilt, während einer Stunde auf 80° C, wurden in 5 derselben jedesmal 2 Tropfen einer 10-proz. Na_2SO_3-Lösung, in 5 anderen 2 Tropfen einer ebenso konzentrierten $Na_2S_2O_3$-Lösung, wieder in 5 ein wenig Bouillonkultur des Bacillus zugesetzt, während die 5 übrigen zur Kontrolle aufbewahrt blieben. Sämtliche Probiergläschen wurden während 8 Tage in Klein's Apparat gesetzt. Hernach zeigten, mit Ausnahme der letzten 5 Probiergläschen sämtliche mit Nitroprussidnatrium und Ammoniak die Reaktion auf Schwefelwasserstoff.

Von dem Organismus wußten wir also, daß derselbe aus Sulfat ebensowenig wie aus Sulfit in der angegebenen Konzentration H_2S bilden kann; daß er jedoch in dem sulfathaltigen Gemenge von pasteurisiertem Schlamm und Grabenwasser H_2S-Bildung veranlaßt und daß dieses Gemenge, außer durch die Wirkung des Organismus, auch aus Na_2SO_3 und $Na_2S_2O_3$ H_2S bilden kann.

Es wurde demnach wahrscheinlich, daß wir uns diese Umsetzung also vorstellen konnten.

Das Bakterium reduziert Sulfat zu Sulfit oder einer anderen niederen SO-Verbindung, welche wiederum unter Einfluß der viel verbreiteten Bakterien, die hieraus H_2S bereiten können, umgesetzt wird. Ist dem so, so muß nach der Wirkung in einer Flüssigkeit, welche als S-Quelle nur Sulfat enthält, etwas gebildet werden, was mit ClH durch Kochen entfernt werden kann, und wenn man es in Bromwasser auffängt, wieder zu Schwefelsäure oxydiert wird. Vorab gehe eine Beschreibung des Bacillus aus Stokvis' Dissertation.

Dieser Organismus zeigte die folgenden Eigenschaften. Auf Bouillonagar ist die Länge $^3/_4$ μ, die Breite ungefähr $^3/_8$ μ, in Bouillon und auf Agar, in Klein's Apparat gezüchtet, ist die Länge 1,5 μ, die Breite $^3/_4$ μ. Es ist ein fakultativer Anaërobiont, hat abgerundete Enden, Sporenbildung wurde nicht wahrgenommen; er bildet in 0,5-proz. zuckerhaltiger Bouillon viel Gas, auch in Zuckeragar, reduziert Methylenblau, aber nicht Nitrate, bildet in Pepton-Kochsalzlösung nicht Indol in 4 Tagen (was B. coli in unserer Lösung wohl thut) und macht die Milch nicht gerinnen, was B. coli auch zu thun vermag. Der Organismus ist sehr beweglich, wird durch Gram's Methode entfärbt, verflüssigt die Gelatine nicht, wächst auf derselben und auf Agar wie B. coli und bildet auf Kartoffeln einen dicken, weißen Beschlag. Eine Emulsion einer 24 Stunden alten Agarkultur wird durch Serum eines mit B. coli infizierten Tieres in Verdünnung von 1 auf 10 nicht agglutiniert. Wiewohl nun letzterer Eigenschaft meines Erachtens nicht zu viel Wert beizumessen ist, seitdem wir wissen, daß das Coli-Serum nur für die bestimmte Varietät, womit das Tier infiziert wird, und nicht für alle Coli-Formen agglutinierend wirkt, so können wir dennoch dem negativen Ergebnis der Probe mit Rücksicht auf die oben erwähnten Unterschiede einigen Wert nicht absprechen, und können daher den Organismus alles in allem genommen ganz gewiß nicht für einen B. coli halten; wir glaubten daher,

demselben einen eigenen Namen beilegen zu dürfen und gaben ihm den Namen B. desulfuricans.

Dagegen trägt Beijerinck Bedenken [1]; er betrachtet unseren Organismus, ohne daß klar wird, daß er eine Kultur desselben untersucht hat, als B. coli, und hält es für „einen kleinen Beitrag zu der gegenwärtig in der bakteriologischen Nomenklatur herrschenden Verwirrung“, daß wir dem von Stokvis aufgefundenen Bacillus einen besonderen Namen gaben. Ich sehe das nicht ein und bin im Gegenteil der Ansicht, daß man nicht berechtigt ist, einen Organismus mit abweichenden Eigenschaften als eine Varietät zu betrachten, so lange man nicht bewiesen hat, daß er aus dem Typus entstanden ist. Wenn man eine Kultur von B. prodigiosus bei Körpertemperatur züchtet, kann man auch die dann entstandene farblose Kultur noch als eine Reinkultur von B. prodig. betrachten; wenn man aber irgendwo eine rahmfarbene Bakterienmasse aus kurzen Bakterien auf einer Kartoffel findet, ist man nicht berechtigt, dieselbe eine Kultur von B. prodigiosus zu nennen. Wir hielten es demnach für sicherer, dem Organismus einstweilen einen anderen Namen zu geben. Wir handelten in Uebereinstimmung mit Kruse's Systematik der Bacillen [2]. Vielleicht stellt sich nachher die Identität mit einem anderen Organismus, z. B. B. levans der Brotgärung, heraus; dann ist es an der Zeit, den Namen B. desulfuricans durch den älteren zu ersetzen [3].

Beijerinck's Versuch, die Stäbchenbakterien, welche Zucker vergären, zu einer Gruppe, „Aërobacter“, zu vereinigen, ist meines Erachtens ein vorzeitiger Versuch, die Bakteriologie zu vereinfachen.

Um die Einwirkung von B. desulfuricans auf Sulfat zu untersuchen, wurden Lösungen eines abwechselnden Quantums Na_2SO_4 gemacht, mehrere mit $MgSO_4$, aber weiter in folgender Weise zusammengesetzt: 12 g NaCl, 1 g KaCl, 0,40 mg HNa_2PO_4, 0,5 g Glykose und 1 g Asparagin auf 1000 destilliertes Wasser. Mit dieser Flüssigkeit wurden Erlenmeyer'sche Kolben gefüllt; dieselben wurden sterilisiert bei 110° C, nach Abkühlung in 200 ccm aus einem dieser Kolben der SO_3-Gehalt bestimmt mit $BaCl_2$, dann die anderen mit dem gefundenen Bacillus oder auch mit B. coli geimpft und darauf sterilisierte Kolben von etwa 300 ccm mit eingeschmolzenen Glasröhren mit diesem Gemenge gefüllt. Diese Kolben hatten einen runden Boden, die eine Röhre reichte bis nahe an den Boden, die andere endigte in den oberen Teil. Hierauf wurde die tiefgehende, außerhalb der Kolbe gradwinkelig umgebogene Röhre zugeschmolzen, das Ende der anderen mittels der Wasserluftpumpe bis etwa 17 mm Quecksilberdruck ausgepumpt und dann auch zugeschmolzen. Bei ungleichen Temperaturen und einer ungleichen Zahl Tage gezüchtet, wurden diese Kolben dann geöffnet, durch CO_2-Druck wurde nun der Inhalt in eine zuvor mit CO_2 gefüllte Kochkolbe gebracht und unter Durchführung von CO_2, nach-

---

1) Centralbl. f. Bakt. etc. 2. Abt. Bd. VI. 1900. No. 7. p. 205. Note.
2) Flügge, Die Mikroorganismen. Bd. II. 1896. p. 372.
3) Flügge, Bd. II. p. 381.

dem ClH zugesetzt wurde, gekocht. Das Destillat wurde nach Abkühlung in Bromwasser aufgefangen. Dieses Bromwasser wurde später abgedampft, bis das Brom sich verflüchtigte, und dann mit HCl und $BaCl_2$ nach der Anwesenheit von SO_3 gesucht. Weiter wurde von dem Inhalt der Kochkolbe nach Destillation von etwa der Hälfte der Flüssigkeit der HS_3-Gehalt bestimmt. Die Benutzung eines Kautschukschlauches wurde soviel wie möglich vermieden, und auch durch Blankobestimmungen die Zuverlässigkeit der Methode bewiesen. Diese Kontrollproben wurden auf die folgende Weise gewonnen. Eine Züchtkolbe wurde mit der nämlichen Flüssigkeit gefüllt als die anderen, welche zur Kultur dienten, die sich darin befindende Luft wurde verdünnt, die Kolbe zugeschmolzen und unter die nämliche Temperatur gesetzt, während der nämlichen Anzahl Tage. Der Inhalt wurde hernach überdestilliert gerade wie der der anderen Kolben. Schließlich wurde die Kulturflüssigkeit von 2 Kolben mit Bromwasser gekocht, weil sich herausstellte, daß ein größeres Quantum SO_3 verloren gegangen war, als sich ein Destillat zurückfinden ließ.

Nachstehende Tabelle giebt eine Uebersicht der Resultate:

No.	Bakterium, womit geimpft wurde	Temperatur, wobei gezüchtet wurde	Anzahl Tage	SO_3 mg im Liter: in der ursprüngl. Flüssigkeit	SO_3 mg im Liter: in der Kulturflüssigkeit nach Kochung mit Bromwasser	Im Rest des Kochkolben ohne Br.	Im Destillat	Anmerkung
1	B. desulf.	37° C	4	587,5		536	Spur	
2	Kontrolle					556	—	
3	B. desulf.	37° C	3	590,5		538	Spur	
4	B. coli					570	—	
5	B. desulf.	37° C	8	360,5		351	+ deutlich	in steril. Grabenwasser mit nur 5 g ClNa im Liter
6	B. coli					360	—	
7	Kontrolle					357	—	
8	B. desulf.	37° C	4	690		580	4	
9			8			588	Spur	
10			10			563	34	
11	Kontrolle		10			680	—	
12	B. desulf.	37° C	4	896		873	Spur	
13					893		—	
14	B. desulf.	23° C	5	703,5		676,5	Spur	
15					698,5		—	

Mit Ausnahme der Proben 1 und 2, wo offenbar ein Irrtum vorgekommen ist, geben die Resultate keinen Grund zu Bedenken.

Die Flüssigkeit reagierte stets schwach sauer, die Kochkolben waren in den mitgeteilten Proben stets geschlossen und hatten bei Oeffnung negativen Druck, mit Nitroprussidnatrium war niemals H_2S nachweisbar, ebensowenig zeigten sie je einen besonderen Geruch, der vielleicht auf die Bildung von Merkaptan schließen ließe. Es wurde also wahrscheinlicher, daß Bacterium desulfuricans, das bei einem Zuckergehalt von 0,5 auf 1000 Sulfit nicht zu Sulfid reduziert, wohl das Sulfat zu Sulfit reduzieren kann. Daß irgend eine flüchtige durch ClH bei Kochhitze frei werdende organische S-Verbindung sich gebildet haben könnte, wurde zwar zugegeben, für das wahrscheinlichste halten wir aber die oben erwähnte Hypothese. Klar bewiesen

war jedoch das Auftreten von SO_2 nicht, und weder Stokvis in seiner Konklusion noch ich selber auf dem niederländischen Kongreß haben uns in dieser Hinsicht in unseren Aeußerungen Unvorsichtigkeit vorzuwerfen. Daß durch die Entstehung von Sulfit die oben erwähnten Erscheinungen in dem pasteurisierten Gemenge von Schlamm und Grabenwasser erklärt werden können, wurde schon mitgeteilt. Unerklärt bleibt in Stokvis' Proben (analog den Resultaten Beijerinck's) das Verschwinden von Sulfat in den Kulturflüssigkeiten, ohne daß dasselbe im Destillat zurückzufinden wäre. Die unbekannten Verbindungen des verschwundenen Schwefels können durch Brom, wie die Proben 13 und 15 zeigen, wieder in SO_3 umgesetzt werden.

Stokvis mußte seine Untersuchung hier einstweilen abschließen, und ich beschloß, das Problem unter Mitwirkung des Herrn Dr. chem. L. Th. Reicher wieder zur Hand zu nehmen. Seit etwa einem Jahre befasse ich mich, soweit andere Beschäftigungen es erlauben, mit Versuchen über die Wirkung von B. desulfuricans auf Sulfat.

Stokvis' Resultate habe ich auch bei modifizierten Versuchsbedingungen bestätigen können, aber den Zweck, die Entwickelung eines großen Quantums der flüchtigen S-Verbindung, um das Wesen dieses Stoffes genau bestimmen zu können, habe ich nicht erreicht. Ich ließ größere Züchtkolben mit einem Inhalt von nahezu 1 l anfertigen, füllte dieselben mit Flüssigkeiten, welche bereitet wurden durch Verdünnung einer 10mal stärkeren Lösung von Chloriden und Sulfaten, als diese Salze im Seewasser gefunden wurden, welcher Lösung ich ein wenig Dinatriumphosphat zusetzte. Der Verdünnung fügte ich dann 1 ccm oder etwas weniger von einer konzentrierten Lösung von $CaCl_2$ — weil im Grabenwasser Ca gleichfalls sich befindet — Asparagin und Glykose in abwechselnden Quantitäten (letztere von 0,1—1 auf 1000) zu. In diesen Flüssigkeiten mit einem SO_3- und Cl-Gehalt, wie sie ungefähr in unserem Grabenwasser gefunden werden, züchtete ich B. desulfuricans bei Zimmertemperatur im Sommer, bei 24 bis 26° C im Brütschrank im Winter. Wenn die Kolben geöffnet wurden, zeigten sie stets negativen Gasdruck, reagierten sehr schwach sauer und enthielten ausnahmslos Reinkulturen des B. desulfuricans oder in den betreffenden Proben des B. coli, wovon wir uns durch die Plattenkultur überzeugten. Ich habe solche Kolben monatelang und wenige Tage gezüchtet; ich habe im Destillat bisweilen eine Spur, bisweilen ein geringes wägbares, einige Milligramm betragendes Quantum S, durch Bromwasser zu SO_3 oxydiert, auffinden können, auch habe ich häufig S im Destillat nicht nachweisen können.

Für die Erklärung dieser Abweichungen ist meines Erachtens die Zeit noch nicht da, weil die Untersuchungen von Herrn Dr. Reicher und mir noch stets fortgesetzt werden. Nur einzelne Versuche seien hier erwähnt. Ich hoffe späterhin, wenn ich mit meiner Untersuchung weiter vorgerückt bin, in die Lage versetzt zu werden, in diesem Centralbl. vollständigere Resultate zu veröffentlichen.

Um die Wirkung von B. desulfuricans und B. coli auf Thiosulfat zu untersuchen, fanden folgende Proben statt.

Züchtkolben und Gärungsröhrchen wurden mit einer Flüssigkeit gefüllt, welche bestand aus: ClNa 12 g, KCl 1 g, Na_2HPO_4 30 mg. Na_2SO_4 1 g, $Na_2S_2O_3$ 1,5 g, Asparagin 1 g, Glykose 1,5 g, destilliertem Wasser 1000 ccm. Sie wurden teils mit B. desulfuricans, teils mit B. coli geimpft und die Züchtkolben darauf zugeschmolzen, nachdem die Luft durch die Wasserluftpumpe entfernt worden war. In den Gärungsröhrchen zeigte sich nach 3 oder 4 Tagen bei 24° C ein Gasbläschen, die Kolben hatten bei der Oeffnung noch immer negativen Druck. Mit einem Teile des Inhaltes wurde Ammoniak- und Nitroprussidnatriumlösung gemischt. Die Reaktion war negativ in beiden Flüssigkeiten.

Hingegen ließ sich in beiden SH_2 deutlich nachweisen, wenn man Bleipapier in einer kleinen Kolbe befestigte, worin ein wenig von der Flüssigkeit mit sehr wenig ClH erwärmt wurde. Unverändertes $Na_2S_2O_3$ war noch hinlänglich anwesend, was sich ergab aus der starken Verfärbung des Bleipapiers, wenn der salzsauren Lösung noch Zink und Platinchlorid zugesetzt wurde.

Auf dieselbe Weise und in denselben Flüssigkeiten, in denen jedoch das Thiosulfat durch Sulfit ersetzt worden war, die also den oben erwähnten aus Stokvis' Dissertation gleich war, wurden diese Proben wiederholt und nach 3-tägiger Züchtung bei 23° C die zugeschmolzenen Kolben geöffnet. Mit Bleipapier auf die oben angegebene Weise ließ sich in keiner von beiden, sogar nach 24 Stunden, eine Spur von H_2S nachweisen, während zufolge der Proben mit Zink und Salzsäure unverändertes Sulfit anwesend war [1].

Hieraus wurde also Stokvis' Probe mit einem anderen Reagens, als er benutzte, bestätigt, und zugleich ergab sich, daß bei den gegebenen Bedingungen Thiosulfat H_2S-Bildung veranlaßt, Sulfit jedoch nicht. Nebenbei stellte sich heraus, daß für diese Experimente Bleiacetatpapier ein besseres Reagens als Nitroprussidnatrium ist, welches letztere Stokvis gute Dienste erwiesen hatte bei seinen Proben mit pasteurisiertem Grabenschlamm.

Eine meiner Proben mit Sulfatlösung sei hier auch noch erwähnt. Ich füllte 4 Züchtkolben von 1 l für Anaërobionten mit dieser Flüssigkeit, welche, außer den Salzen, 1 auf 1000 Asparagin und 0,2 auf 1000 Glykose enthielt und sehr schwach alkalisch reagierte, ich impfte 3 von denselben mit B. desulfuricans. Die Kolben

1) Die auf p. 204 dieses Centralblattes von Beijerinck mitgeteilten Proben, wobei aus Na_2SO_3 durch seine Aërobakterkulturen sich wohl H_2S entwickelte, bedeuten nichts für das Problem der Entwickelung von H_2S in Grabenwasser, und seine Bemerkung in der Note auf p. 205 bezüglich der Dissertation von Stokvis, „was eben Coli sehr gut selbst würde thun können", ist unrichtig. Stokvis und ich haben unsere Proben mit 0,5 auf 1000 Glykose genommen, Beijerinck hingegen züchtete seine „Aërobakter"-Arten in 3—10 auf 100, also 60—200mal mehr konzentrierten Glykoselösungen. Abgesehen noch davon, daß solche starke Zuckerlösungen in brackigem Grabenwasser wohl sehr selten vorkommen werden, und daß auch bei rein chemischen Reaktionen die Konzentration eine nicht gleichgiltige Sache ist, läßt sich in Beijerinck's Proben, durch die „lebhafte Gärung, wobei Wasserstoff und Kohlensäure entstehen", die Reduktion des Sulfits durch Einwirkung von Wasserstoff in statu nascendi ohne weiteres erklären. Durch Zink und Salzsäure in einer Sulfitlösung erreicht man das nämliche Resultat. Seine Meinung, daß der freie Wasserstoff in diesem besonderen Falle keine Rolle spiele bei der Reduktion von Sulfit, ist denn auch ganz willkürlich und ohne Bedeutung.

wurden bei 24° C hingestellt, nach einer in untenstehender Tabelle verzeichneten Anzahl Tage geöffnet, und 3 von denselben ohne oder mit CO_2 nach Zusatz von ClH abdestilliert.

Ein Teil des Inhaltes dieser 3 Kolben wurde nach Zusatz von ClH mit Bleipapier auf die Bildung von SH_2 und durch ClH und Zn auf die von zu SH_2 reduzierbaren S-Verbindungen untersucht. Der Inhalt der Kolben, die für die Destillation gedient haben, wurde nach Abkühlung auf das ursprüngliche Volumen gebracht und hierin sowohl nach Oxydation mit Bromwasser als auch ohne diese Einwirkung in 100 ccm der SO_3-Gehalt bestimmt.

No. der Kolben	Alter der Kultur	SO_3 in mg im Liter				Destilliert:
		ursprünglich	im Rest		im Destillat	
			nach Brom-Einwirkung	ohne Brom		
1	4 Tage	374 mg	370	361	Spur	ohne CO_2
2	4 „		374	359	Spur (0,6 mg)	mit CO_2
3	9 „		375	359	Spur	ohne CO_2

Die Proben mit dem Bleipapier ergaben für alle 3 Kolben das erwartete Resultat. Das Papier blieb weiß, wenn wir ClH der Kultur zusetzten, und wurde deutlich, wenn auch schwach braun an den Rändern, nach Anwendung von Zn, ClH und Platinchlorid. Die vierte Kolbe, die auf dieselbe Weise behandelt worden war als die anderen, war hell geblieben und der Inhalt zeigte weder mit ClH ohne Wärmung noch mit ClH, Platinchlorid und Zink eine Spur von Verfärbung des Bleipapiers, auch nicht nach 24-stündiger Wahrnehmung.

Unsere Ansicht, daß das flüchtige Produkt durch Destillation SO_2 enthalte, wurde hierdurch verstärkt.

Wiewohl wir bei unserer Untersuchung besonders auf die flüchtige S-Verbindung geachtet haben, haben wir doch ein einziges Mal zu erforschen versucht, welcher Art die S-Verbindungen wären, die in den Kolben nach der Destillation zurückblieben, mit $BaCl_2$ nicht gefällt werden konnten und die Stokvis wie auch ich selber durch Brom wieder in SO_3 verändern konnten. Einmal haben wir den Inhalt einer ganzen Kolbe von 1 l (während mehrerer Monate kultiviert auf dieselbe Weise wie andere Kolben, die eine positive Reaktion auf SO_3 im Destillat ergaben) mit CS_2 ausgeschüttet, wobei sich ein wenig von einer fettigen Massein CS_2 löste. Diese Masse wurde nach Verdampfung des CS_2 mit Aether ausgewaschen, es blieb ein Rest, der nach Oxydation mit Salpeter einen deutlichen Niederschlag mit $BaCl_2$ ergab. Vielleicht befindet sich in der trüben Flüssigkeit, worin sich B. desulfuricans entwickelt, S in fein verteiltem Zustande. Weitere Untersuchungen müssen uns belehren; gewiß wäre dies ein Beitrag zur Verstärkung unserer Ansicht, daß die biologische Entwickelung aus Sulfaten in Brackwasser ein zusammengesetzter Prozeß ist, wobei durch B. desulfuricans und vielleicht noch durch andere Bakterien das Sulfat zu anderen schwefelhaltigen Körpern reduziert wird, nicht aber zu Schwefelwasserstoff, welches hingegen aus jenen Verbindungen durch andere Mikroben hergestellt werden kann.

13. Juli 1900.

Nachdruck verboten.

Replik auf C. Wehmer's Bemerkung zum Mehltau der Apfelbäume.

Von **P. Magnus.**

Herr C. Wehmer hat in diesem Jahrgang dieser Zeitschrift p. 429 auf meine sachlichen Ausstellungen an seiner i. d. J. p. 51—54 gegebene Mitteilung über den Mehltau der Apfelbäume in einer leider nicht sachlichen und leider nicht objektiven Weise geantwortet.

Zunächst nennt er seine Mitteilung anspruchslos. Ich muß gestehen, daß ich das nicht verstehe. Jede Mitteilung, namentlich wenn sie in einem so geachteten wissenschaflichen Blatte, wie diesem Centralblatte für Bakteriologie erscheint, hat das Recht zu verlangen, beachtet zu werden und muß einer kritischen Besprechung gewärtig sein. Was da der Ausdruck „anspruchslos" bedeuten soll, verstehe ich, wie gesagt, nicht.

Herr C. Wehmer scheint ferner zu meinen, daß es allein dem Ermessen des Autors anheimstehe, frühere, seinen Gegenstand behandelnde Arbeiten zu berücksichtigen, oder nicht zu berücksichtigen. Auch darin muß ich ihm widersprechen. Da Wehmer p. 52 u. 53 die Speciesfrage expreß berührt, so halte ich mich auch heute zu dem Ausspruche berechtigt, daß ihm meine in den Berichten der Deutschen Botan. Gesellschaft erschienene Arbeit nicht hätte zu entgehen brauchen. Wer über einen Gegenstand arbeitet und veröffentlicht, soll wenigstens die am meisten in seine Frage einschlagende Litteratur kennen, namentlich, wenn sie an einem allgemein und speciell Herrn Wehmer so leicht zugänglichen Orte, wie die Berichte der Deutschen Botan. Gesellschaft sind, veröffentlicht ist. Thut er das nicht, so trifft seine Mitteilung eben ein Vorwurf.

Wehmer hatte p. 52 ganz allgemein, ohne irgend eine Einschränkung vom Mehltau des Apfels behauptet, daß sein Auftreten in den Frühsommer (Mai — Juni) fällt und sicht nicht über eine gewisse Zeit hinaus auf die Hoch- bezw. Spätsommermonate fortsetze. Dem bin ich mit bestimmten Thatsachen und Daten entgegengetreten, und darunter sogar mit Beobachtungen verschiedener Jahre (und darunter einer absichtlich ausgewählten am selben Standorte, San Michele a. Etsch). Wenn er dann von mir sagt, daß ich zum Schlusse sage, daß sich der Mehltau „wahrscheinlich verschieden verhält", so ist das eine nicht objektive Darstellung. Denn ich sage, daß das Oidium von Sphaerotheca Mali Burr. an verschiedenen Standorten im September auftrat, und daß die vielleicht in Betracht kommende Podosphaera auf dem nahe verwandten Crataegus ebenfalls bis spät in den Herbst hinein auftritt. Ich füge aber objektiv hinzu, daß es möglich und wahrscheinlich sei, daß sich der Mehltau verschieden in seinem Auftreten nach dem Verlaufe der Witterung an seinem Stand-

orte im Beobachtungsjahr verhalte. Solche Möglichkeit muß Jeder zugeben, der sich mit dem Auftreten einer Pflanzenkrankheit in verschiedenen Jahren abgegeben hat. Ich sollte meinen, daß das etwas anderes ist, als was mich Herr Wehmer sagen läßt. Ich sage nicht, wie er zu citieren beliebt, daß sich der Mehltau wahrscheinlich verschieden verhält, sondern daß sich sein Auftreten nach dem Verlaufe der Witterung an seinem Standorte modifiziere. Ich glaube mich daher zu der Behauptung berechtigt, daß mich Herr Wehmer nicht objektiv citiert hat.

Sodann sagt Herr Wehmer, daß ich eine Lanze für das Schwefeln breche, was auch richtig ist und ich gerne wiederhole. Aber er verschweigt, daß ich auch gegen das von ihm p. 54 gegen den Mehltau der Rosen empfohlene Spritzen mit Kupferbrühe auftrete und mich dort in Bezug auf den Apfelmehltau speziell auf die Mitteilungen von R. Goethe in Geisenheim a/Rhein berufe. Ich hebe auch heute nochmals hervor, daß ich nach häufigen praktischen Erfahrungen im Gegensatze zu der von Herrn Wehmer p. 54 ausgesprochenen Ansicht das Schwefeln der Rosenstöcke als gutes Mittel gegen den Mehltau der Rosen kennen und schätzen gelernt habe. Und ebenso hat sich das Schwefeln gegen den Mehltau des Weines bewährt, Vielleicht ist noch besser die Anwendung des Schwefels in gebundener Form. Wenigstens empfiehlt neuerdings G. B. Close gegen den Stachelbeermehltau Kaliumsulphid (nach dem Referate von L. H. Pammel. p. 437 d. Jahrg. d. Zeitschr.). Auf die aprioristischen Bemerkungen des Herrn Wehmer, weshalb das Schwefeln gegen den auf der Blattunterseite auftretenden Apfel- und Rosenmehltau nicht anzuwenden sei, brauche ich wohl nicht näher einzugehen. Das ist überflüssig.

Recht unsachlich muß ich schließlich Wehmer's letzte persönliche Ausfälle erklären. Ich weiß nicht, wodurch sich Wehmer's persönliche Erfahrungen von den meinen prinzipiell unterscheiden sollen. Im Gegenteil, ich glaube bessere Beobachtungen bei der Bekämpfung des Mehltaus der Rosen und des Weines gemacht zu haben, als Herr Wehmer, und muß sie als positive Erfahrungen, wie nur irgend welche, in Anspruch nehmen, wenn sie auch Herr Wehmer nach seinen Begriffen von Erfahrung nicht dafür gelten lassen will. Auch kann ich nicht zugeben, daß es irgend einen wissenschaftlichen Sinn hat, wenn Wehmer bemerkt, daß meine Ausführungen vom grünen Tische des Systematikers gemacht seien, oder wenn ich bemerken würde, daß seine Ausführungen vom weißen Tische des botanisch wenig geschulten Chemikers gemacht seien. Es würde der Klärung der Fragen weit mehr „von Vorteil“ sein, wenn Wehmer künftig solche gänzlich überflüssige Bemerkungen unterließe und mehr und ausschließlich auf das Wesen der fraglichen Sache einginge.

Referate.

Oppenheimer, Carl, Die Fermente und ihre Wirkungen. Leipzig (F. C. W. Vogel) 1900.

Nach der Definition Oppenheimer's unterscheiden sich die fermentativen Prozesse von den Stoffwechselvorgängen prinzipiell dadurch, daß die ersteren exothermal, die letzteren endothermal verlaufen, daß bei ersteren potentielle Energie in kinetische verwandelt wird, während bei letzteren das Umgekehrte stattfindet. Dementsprechend rechnet Oppenheimer zu den fermentativen Vorgängen nicht nur die enzymatischen Prozesse, sondern auch die alkoholische Gärung, gleichgiltig ob Buchner's Auffassung derselben als bedingt durch die Zymase anerkannt wird, wie Verf. thut, oder nicht, ferner die Milchsäuregärung, die Bildung von Essigsäure aus Alkohol, von Oxalsäure, Citronensäure u. s. f. aus Zucker. Er schließt indessen, weniger konsequent, als komplizierte Vorgänge die Buttersäuregärung, die Eiweißfäulnis, viele andere Zuckergärungen durch Bakterien und den Atmungsprozeß von den Fermentprozessen und damit von seiner Betrachtung aus. Mit Recht verwirft Verf. die Annahme synthetisch wirkender Enzyme.

Damit ist das Gebiet gekennzeichnet, das der Verf. behandelt. Auf einen allgemeinen Teil (Definition des Begriffes Ferment) Chemische Natur der Fermente, Wirkungsweise, Bildung u. s. f., folgt der umfangreichere spezielle, der naturgemäß sich gliedert in zwei Abschnitte, einen über die hydrolytisch wirkenden, den anderen über die oxydierenden Fermente. Die ersteren werden eingeteilt in proteolytische, koagulierende, saccharifizierende, glykosidspaltende, sowie „andere hydrolytische Fermente (Lipasen, Urase), zu denen mehr anhangsweise noch die Milchsäuregärung kommt, die Ref. freilich eher unter den oxydierenden Fermenten gesucht hätte. Der Abschnitt über die letzteren behandelt zunächst die alkoholische Gärung, dann die Oxydasen, denen gegenüber Verf. wohl mit Recht eine sehr kritische Stellung einnimmt, und endlich die oxydativen Gärungen (Essig- u. s. w. Gärung.)

Der Biologe wird ja die letzteren ebensowohl wie die Milchsäuregärung entschieden zu den Stoffwechselprozessen zählen, so lange nicht die Möglichkeit erwiesen ist, diese Prozesse vom Leben ihrer Verursacher zu trennen; er wird überhaupt an der prinzipiell klaren Unterscheidung von enzymatischen und Stoffwechselprozessen festhalten. Aber auch wenn man den eigenartigen Standpunkt des Verf.'s nicht teilt, wird man doch seinem Werke die Anerkennung nicht versagen wollen und können, daß es entschieden die beste zusammenfassende Darstellung der Enzyme und enzymatischen Vorgänge ist, die wir zur Zeit besitzen. Die Litteratur ist mit großer, allerdings, besonders nach der botanischen Seite hin, keineswegs absoluter Voll-

ständigkeit benutzt und citiert, was dem Buche für den Forscher auf dem Gebiet der Enzyme besonderen Wert verleiht.

Von thatsächlichen Irrtümern ist dem Ref. nur die „Reduktion von Schwefelverbindungen durch Beggiatoa-Arten" aufgefallen (p. 20); das Umgekehrte ist bekanntlich der Fall, und die Thätigkeit der Schwefelbakterien hätte daher nach dem Standpunkt des Verf.'s unter den oxydativen Gärungen ihren Platz finden müssen, wo man übrigens auch die Nitrit- uud Nitratbildung vermißt. Beim Myrosin ist dem Verf. entgangen, daß Gadamer 1897 bereits den Nachweis für die hydrolytische Natur dieses Enzyms geführt hat.

Behrens (Weinsberg).

Stoklasa, Julius, Ueber neue Probleme der Bodenimpfung. (Zeitschrift für das landwirtschaftliche Versuchswesen in Oesterreich. Jahrg. III. 1900. p. 440—446.)

Stoklasa leitet mit der vorliegenden Mitteilung eine Serie von Studien über Bodenimpfung ein. In dieser ersten Mitteilung soll der Bedeutung der Bakterien für die Entwickelung der Pflanzen nachgegangen werden. Von früheren Bearbeitern desselben Themas werden nur Duclaux und Koch genannt und ihre Ansichten einander gegenübergestellt.

Stoklasa zog seine Versuchspflanzen unter Glasglocken, durch die mittels steriler „Watta", konzentrierter Schwefelsäure, Kaliumpermanganatlösung gereinigte Luft gesogen wurde. Die Glasglocken, Gefäße und die Erde waren sterilisiert. Letzterer wurden Calciumphosphat, Chilesalpeter, Kaliumsulfat, Gyps, Magnesiumchlorid und Eisenphosphat als Nährstoffe (sterilisiert ? Ref.) zugefügt. Von zwei gleichzeitig benutzten Apparaten wurde in einem der Boden steril belassen, im anderen mit folgenden, im Boden ziemlich verbreiteten Bakterien geimpft: Bacillus mycoides, B. fluorescens liquefaciens, B. proteus vulgaris, B. subtilis, B. butyricus Hueppe, B. megaterium (im Original natürlich wieder megatherium ! Ref.), B. urae (wohl ureae), B. mesentericus vulgatus, B. coli commune. Gleichzeitig mit der Bakterienmischung wurden 5 g Glukose in sterilisierter Lösung gegeben. Als Versuchspflanze diente Brassica oleracea, „welche sich durch eine kurze Vegetationszeit auszeichnet". Die Samen wurden durch 1-minütliches Weichen in 1 $^{0}/_{00}$ Sublimatlösung sterilisiert und dann nach Abwaschen mit sterilem Wasser eingesät.

Die Vegetationszeit dauerte 52 resp. 41 und 43 Tage. Der bewundernswert geschickten Hand des Verf.'s ist es zu danken, daß der ursprünglich sterile Boden auch nach Abschluß der Vegetation steril geblieben war, während der infizierte Boden 5 600 000 „vegetative Keime" (Das „vegetativ" ist wohl nur schmückendes Beiwort und soll hoffentlich keinen Gegensatz zu „generativ" bedeuten. Ref.) pro g enthielt.

Das Resultat war ein bedeutend höherer Ertrag an Samen und Stengeln etc. (Trockensubstanz) im infizierten Topf als im sterilen.

Auch waren die Samen aus ersterem bedeutend schwerer. Leider giebt Verf. weder hier noch weiterhin an, wie viel von den 10 in jeden Topf gesäten Körnern eigentlich aufgegangen waren und gesunde Pflanzen geliefert hatten.

Weiter wurden im zweiten und dritten Jahre die Samen der Pflanze aus dem infizierten Boden und die aus dem sterilen im gleichen Boden nachgezogen unter entsprechenden Verhältnissen, wobei der Ertragsunterschied immer größer wurde. Im dritten Jahre betrug die Trockensubstanz der Samen im infizierten Boden 2,62 g, im sterilen 0,33 g, die der Stengel und Blätter im infizierten Boden 12,08 g, im sterilen Boden 9,00 g.

Verf. schließt daher: „Aus diesen Versuchen erhellt, daß bei meinen Versuchen ohne Mikroben im vitalen Boden die Vorgänge im Pflanzenorganismus nicht normal verliefen.“ Ref. kann sich unter „vitalem Boden“ allerdings nichts vorstellen, pflichtet aber durchaus Stoklasa's eben mitgeteilter Schlußfolgerung bei mit dem Vorbehalt allerdings, daß auch bei Stoklasa's Versuchen mit Mikroben die Vorgänge in Brassica oleracea nicht ganz normal verlaufen zu sein scheinen. Bei uns und anderswo ist Brassica oleracea wenigstens keineswegs eine Pflanze, die sich durch kurze Vegetationszeit auszeichnet, vielmehr durchaus 2-jährig. Wenn also Ref. auch die glückliche Hand des Experimentators bewundert, dem alle die komplizierten Arbeiten unter Vermeidung jeder Fremdinfektion glückten, trotzdem er immer nur zwei Apparate ansetzte, so macht ihn das ungewohnte Verhalten der Brassica doch äußerst mißtrauisch, ob nicht hier und vielleicht auch anderswo ein Irrtum untergelaufen ist.

Behrens (Weinsberg).

Stoklasa, Julius, Ueber den Wert des landwirtschaftlichen bakteriologischen Impfdüngers „Alinit“. (Deutsche Landw. Presse. Jahrg. XXVI. No. 24.)

Verf. geht auf die Arbeit von Lauck (Centralbl. f. Bakt. No. 1 u. 2) ein und widerlegt die darin enthaltene Ansicht, daß im Alinit Bacillus subtilis enthalten sei. Verf. hat sofort Versuche und Nachprüfungen angestellt, deren Resultate von den Lauck'schen völlig verschieden waren, so weist er nach, daß die Alinit-Bakterien Nitrate auf Nitrite reduzieren, und einen großen Teil der Nitrite in Ammoniak verwandeln. Bac. subtilis verwandelt dagegen nur Nitrate in Nitrite.

Ferner gedeihen die Alinit-Bakterien am besten in Xylose oder in einem Gemisch von Xylose und Galaktose (3 : 1). Sie nehmen den Stickstoff der Luft in bedeutendem Maße auf. Die Vermehrung des Bac. subtilis war in dem genannten Medium weniger stark, ebenso war auch die Stickstoffentnahme aus der Luft gering. Bei Anwesenheit von Eiweißstoffen fand eine größere Stickstoffvermehrung statt.

Außer den genannten Versuchen wurden vom Verf. Vegetationsversuche vorgenommen, die in sterilisiertem Sandboden ausgeführt wurden. Bei einer zweiten Versuchsreihe wurde sterilisierter Wald-

boden beigemengt. Als Saat diente Hafer. Das Resultat war folgendes:

	Sehr humusarmer Boden		Mit Humus gemischter Boden	
	Körner	Stroh und Spreu	Körner	Stroh und Spreu
Ohne Infektion	178,2	214,5	190,6	258,8
Infiziert mit Bac. subtilis	180,5	237,0	193,5	259,3
„ „ Alinit-Bakterien	180,9	245,0	265,7	352,4

Verf. sucht daraus zu beweisen, daß Alinit thatsächlich ein gutes Düngemittel sei.

Verf. giebt alsdann verschiedene Versuche an, bei welchen das Alinit sich sehr gut bewährt hat.

Verf. zieht weiter eine Parallele zwischen Versuchen mit ungünstigen Wirkungen bei Alinit und den oft verunglückten Versuchen mit künstlichen Düngemitteln und kommt zu dem Schluß, daß die Alinit-Bakterien auf einigen Böden allerdings nicht gedeihen wollten, und wirft Lauck vor, daß dessen Ausführungen auf nicht genauen Beobachtungen basierten. Des weiteren sei auf den Artikel selbst verwiesen. Thiele (Halle a. S.).

Raciborski, M., Parasitische Algen und Pilze Javas. II. und III. Teil. [Herausgegeben vom botanischen Institut zu Buitenzorg.] Batavia 1900. 46 u. 49 p.

Die vorliegenden Hefte schließen sich in ihrem Inhalt dem bereits früher besprochenen I. Teil der „Parasitischen Algen und Pilze Javas“ an. Im II. Teil zählt Raciborski wieder 50, im III. 63 Arten von Parasiten auf, diesmal, bis auf einen (Phyllosiphon Trisari Kühn), sämtlich Pilze, darunter 8 und 3 neue Gattungen und 40 und 49 neue Arten.

Von Feinden von Kulturpflanzen seien erwähnt: Scolecotrichum Cinnamomi Rac. im Blatt von Cinnamomum ceylanicum, auf der Unterseite fruchtend, Cercospora Nicotianae Ell. et Ev. auf Nicotiana tabacum, Napicladium Janseanum Rac. auf Blättern von Oryza sativa, ferner Auerswaldia Arengae Rac. und Graphiola Arengae Rac. in den lebenden Blättern von Arenga saccharifera, Trametes Caryophylli Rac. in den Stämmen von Caryophyllus aromaticus, Pestalozzia monochaeta Desm., Castanea vesca in Tjibodas oft ganz entblätternd, Cercospora Ubi Rac. auf den Blättern von Dioscorea alata, Ustilaginoidea viren (Cooke), die Fruchtknoten des Reis sklerotisierend, Hypocrea saccharalis Rac. (verschieden von H. saccharina Berk.), die eine Fäulnis der jungen Blätter und oft der Stengelspitze am Zuckerrohr hervorruft. Tuberculina persicina (Ditm.) auf Aecidium Cinnamomi Rac. ist weit entfernt, der Nährpflanze des Aecidium durch eine schädigende Wirkung auf letzteres zu nützen, im Gegenteil schädlich, da die Tuberculina-Hyphen das Aecidium nicht töten und auch zwischen den Zellen der krankhaften Uredineengeschwülste wuchern.

Die neuen Gattungen sind eine Perisporiee Balladyna,

von Dimerosporium Fuck. durch gestielte, meist einschläuchige Perithecien verschieden, epiphytisch auf Blättern (B. Gardeniae Rac.), rußtauähnliche Ueberzüge bildend; ein Diskomycet Anhellia, deren einzige Myriangium-ähnliche Art A. tristis Rac. in den Blättern von Vaccinium Teysmannianum parasitiert; eine Phacidiee, Iridyonia, Sphaeropeziza nahe stehend, mit zweizelligen, an beiden Enden in 1—2 Stacheln ausgezogenen Sporen (I. filicis Rac., auf Blättern von Blechnum orientale Blattflecken verursachend); zwei Hypocreaceen, Lambro mit L. insignis Rac. in den Blättern von Sterculia subpeltata und die epiphytische Konradia mit den beiden Arten K. bambusina Rac. und K. secunda Rac. auf Bambusstengeln. Ebenfalls auf Bambuszweigen epiphytisch lebt die einzige bekannte Art der neuen Hysteriaceengattung Mendogia, M. bambusina Rac. Neu sind ferner die Uredineengattung Goplana, der einfachste Uredineentypus, ein Verbindungsglied zwischen Coleosporium und der Auriculariaceengattung Stypinella, mit G. Micheliae Rac. auf Blättern von Michelia velutina, und Skierka, von Hamaspora durch einzellige, stiellose Teleutosporen verschieden, mit Sk. canarii Rac. auf der Blattunterseite von Canarium commune. Dazu kommen zwei neue Exobasidieengattungen, Kordyana, mit kleinen, halbkugeligen Hymenien auf einem kleinen, in der Spaltöffnungshöhle gebildeten Stroma und ungeteilten Basidien, die auf zwei Sterigmen farblose, oblong-elliptische, glatte Sporen tragen, mit K. Tradescantiae (Syn. Exobasidium Tradescantiae Pat.) auf Blättern von Tradescantia capitata und K. Pinangae Rac. auf Pinang-Arten, und Lelum, in gallenartigen Deformationen der Zweige der Nährpflanzen mehrere Zellschichten unter der Epidermis ein Hymenium bildend; die Bildung der Sporen (je 2) erfolgt ohne Sterigmen, die bedeckenden Zellenschichten werden zerrissen. Eine Art, L. ustilaginoides Rac., wurde auf jungen Trieben eines wahrscheinlich zu Persea gehörigen Baumes gefunden. Zu den Imperfecti gehört Beniowskia nov. gen. mit B. graminis, die gelbgraue Flecken auf Blättern von Panicum nepalense und unterseits eigenartige Conidienträger in Form von Kugeln bildet, die aus netzförmig (nach Art von Hydrodictyon) verbundenen Hyphen bestehen. Seitlich entstehen an den Hyphen, welche die Netzmaschen begrenzen, durch Knospung die rundlichen Conidien.

Von besonderem Interesse ist das Vorwort zu Teil III, weil dasselbe einige allgemeinere Bemerkungen über die Parasitenflora Javas enthält, die infolge der großen entgegenstehenden Schwierigkeiten trotz mancher schönen Funde und Untersuchungen höchst ungenügend bekannt ist. Besonders in die Augen fallend ist der große Reichtum an schwarzen epiphytischen Pilzen auf Stämmen und Blättern, unter denen sich, abgesehen von den verschiedensten morphologischen Anpassungen zum Zweck der Wasserentnahme und der Befestigung, alle graduellen Abstufungen von reinem Epiphytismus zu echtem Parasitismus finden. Bei Meliola befinden sich solche Abstufungen sogar innerhalb derselben Gattung bei verschiedenen

Arten. Die Grenze zwischen Parasitismus und rein epiphytischer Lebensweise ist nicht immer leicht zu finden. Verf. macht darauf aufmerksam, daß die Unterscheidung in fakultative und obligate Parasiten ihre Berechtigung mehr und mehr verliert, da es immer mehr gelingt, sogenannte obligate Parasiten auf künstlichem Nährboden zu ziehen, wie Verf. selbst noch für Phytophthora Nicotianae bewiesen hat. Nur die Uredineen setzen bisher solchen Versuchen noch absoluten Widerstand entgegen, sind also noch die einzigen obligaten Parasiten.

Die Uredineen Javas verhalten sich biologisch in mancher Beziehung verschieden von denen Europas. Die Teleutosporen der javanischen Uredineen sind meist keine Dauersporen, sondern sofort, ohne Ruheperiode, keimfähig. Vielfach sind sie, vielleicht infolgedessen, nur schwer zu finden oder noch nicht gefunden (Hemileia); die Fortpflanzung beruht fast ausschließlich auf der unausgesetzten Uredosporenbildung.

Die Ustilagineen sind bisher sparsam. Sicher gering an Zahl sind die Peronosporeen. Erysipheen sind nur in conidialen Stadien (vielfach mit Cicinnobolus) gefunden. Dagegen treten die Askomyceten in einem außerordentlichen und geradezu charakteristischen Formenreichtum auf. Eine Sclerotinia vernichtet die Früchte des alpinen Vacinium retusum.

Charakteristisch ist die Häufigkeit parasitischer Chroolepideen, unter denen Cephaleuros-Arten empfindliche Krankheiten auf Caryophyllus aromaticus, Myristica moschata, Cocos nucifera, Areca, Coffea, Vanilla u. s. w. verursachen. Weniger schädlich sind die parasitischen Siphoneen. Die symbiotischen Nostocaceen in Gunnera, Azolla, Cycas-Wurzeln sind allgemein verbreitet.

Charakteristisch und sehr interessant für die javanische Parasitenflora sind rein oberflächlich wachsende, weiße Mycelstränge, welche doch die befallenen Pflanzenteile rapid abtöten, zweifellos durch ein giftiges Exkret, und schwere Schädigungen, z. B. an Myristica, Coffea (Pellicularia Coleroga Cooke), hervorrufen. Verf. zog daraus in einigen Fällen eine Campanella und einen Marasmius. Ein ähnliches Mycel, das runde Sklerotien bildet und zahlreiche Pflanzen befallen und schädigen kann, ist den Zuckerpflanzern als „Rod rot“ bekannt.

Hexenbesenbildungen sind auf Java sehr verbreitet. Doch gelang es nur in wenigen Fällen, einen pilzlichen Parasiten als Ursache zu erkennen. Epichloe bambusina erzeugt Hexenbesen an Bambusarten, E. montana deformiert Blüten und Kurztriebe von Myrsine affinis. Dahin gehören ferner die durch Ustilago Treubii Solms an Polygonum chinense und durch Uromyces Tepperianus an Acacia montana verursachten Neubildungen.

In „Zusätzen“ am Schluß wird die Systematik der Myriangeen (Phymatosphäriaceen nach Spegazzini und Saccardo) besprochen. Weiter behandelt Verf. hier die Berechtigung seiner Gattung Goplana und ihre Unterschiede von Chaeonia Juel sowie die Mor-

phologie und Systematik von Dimerosporium und verwandten Pilzen. Behrens (Weinsberg).

Close, C. P., Plant diseases and insect pests. San José scale. (Utah Sta. Bull. LXV. p. 40. Pls. 5. Figs. 5.)

Kurze Bemerkungen über Fusicladium dendriticum, Micrococcus amylovorus, Exoascus deformans, Blutlaus, Phytoptus Pyri, Carpocapsa pomonella, San José-Schildlaus, und über verschiedene Fungicide und Insecticide.

E. V. Wilcox (Washington).

Lugger, O., Beetles injurious to fruit-producing plants. (Minnesota Sta. Bull. LXVI. p. 248. Figs. 249.)

Verf. giebt ein zusammenfassendes Referat über die gewöhnlichen schädlichen Obstkäfer mit Figuren der Mehrzahl der angezeigten Käferarten und Angabe der bei jeder Art zu empfehlenden Vertilgungsmethode. E. V. Wilcox (Washington).

Hinds, W. E., The grass thrips. (Massachusetts Agr. Col. Rpt. 1899. p. 15. Pls. 4.)

Ein Ausbruch von Anaphothrips striata im Staate Massachusetts wurde vom Verf. beobachtet. Um diese Thrips-Art näher zu studieren, wurden Exemplare in eine Glasflasche gethan und mit Poa pratensis gefüttert. Die Weibchen drängen den Ovipositor in die Blattgewebe hinein und setzen die Eier unter der Epidermalschicht ab. Die frischen, zarten Blattteilchen wurden zu diesem Zwecke vorgezogen. Im Frühling fangen die überwinterten Weibchen an, die Eier abzulegen, und dieser Vorgang dauert 4 bis 5 Wochen. Die Zahl der von jedem Weibchen abgelegten Eier beträgt durchschnittlich 55. Nach 10—15 Tagen schlüpft die erste Larvengeneration aus dem Ei. Im Sommer aber ist das Larvenstadium um die Hälfte kürzer. Um sich einzupuppen, suchen die vollgewachsenen Larven einen einsamen Platz auf, wie z. B. die Scheiden von den oberen und unteren Blättern. Das Puppenstadium dauert 6—8 Tage. Zwei Weibchenformen, eine beflügelte und eine mit rudimentären Flügeln versehene, wurden beobachtet. Von den überwinterten Weibchen sind ungefähr 98 Proz. flügellos, wohingegen ungefähr 90 Proz. von der ersten Generation im Frühling beflügelt sind. Nur erwachsene Weibchen überleben den Winter, obgleich das Eiablegen bis zum Anfang des Winters dauert. Nach den im Laboratorium gemachten Beobachtungen entwickeln sich 8 oder 9 Generationen jährlich. Die Dauer der ganzen Lebenszeit beträgt 30 Tage bei der ersten Generation und 12 Tage während des heißen Wetters. Männchen wurden nicht gefunden. Die erwachsene Grasthrips lebt auf den Grasblättern und wird selten in den Blattscheiden gefunden. Am meisten leiden Poa pratensis und Phleum pratense unter den Angriffen dieses Insektes. Gegen die Grasthrips empfiehlt Verf. Anwendung von Düngemitteln, tiefes Pflügen und Fruchtwechsel.

E. V. Wilcox (Washington).

Hedrick, U. P., The codling moth. A wasp that destroys the codling moth. (Utah Sta. Bull. LXIV. p. 8. Pls. 6.)

Nach Verf. ist weißer Arsenik besser geeignet gegen Carpocapsa pomonella als Schweinfurter Grün; er empfiehlt daher in Utah Bespritzung mit einer aus 4 kg weißem Arsenik, 8 kg Kalk, und 100 l Wasser bestehende Lösung viermal des Jahres bei Sommeräpfeln und sechsmal bei Winteräpfeln (ca. Juni 6, Juni 21, Juli 11, Juli 24, August 13, and September 5). Eine sechsmalige Behandlung kostet 1 Mark per Baum.

Die Wespe Ammophila prunosa soll ein wichtiger Feind der Carpocapsa sein. Verf. hat zwei Kolonieen dieser Wespe näher beobachtet. Nach dem Besitzer vom Apfelgarten, wo Ammophila sich befindet, ist dort keine Behandlung gegen Carpocapsa nötig. In $^1/_4$ qdm Boden hat Verf. 39 Wespenlöcher von 10—20 cm Länge und 7 mm Durchmesser gefunden. E. V. Wilcox (Washington).

Sturgis, Wm. C. Preliminary notes on two diseases of tobacco. (22. Annual Report Connecticut Agric. Exp. Station. 1899. p. 242.)

Zwei Krankheiten der Tabaksblätter werden beschrieben. Die erste ist eine Art Mosaikkrankeit, d. h. die erkrankten Blätter sind unregelmäßig gefleckt. Insekten und Pilze scheinen dabei keine Rolle zu spielen und konnte Verf. auch keine Bakterien finden. Er meint, daß die Krankheit eine physiologische sei, welche durch eine Störung der normalen Verhältnisse der Wasseraufnahme und -abgabe verursacht sei. Diese Störung scheint von plötzlichen Witterungsveränderungen abzuhängen, und wird das Gleichgewicht auf festen Lehmböden erst langsam wieder hergestellt. Verf. findet, daß die Krankheit nicht ansteckend ist und auch nicht durch den Samen vererbt wird.

Die zweite Krankheit ist durch regelmäßige Flecken auf den Blättern gekennzeichnet, welche gewöhnlich an der Blattspitze mehr verbreitet sind als auf den anderen Teilen. Eine Erklärung für die Erscheinung ist noch nicht gefunden worden.

Verf. bespricht dann des längeren die Arbeiten über Mosaikkrankheit von Adolf Mayer, über Pockenkrankheit von Iwanowsky und Poloftzoff, sowie die Ergebnisse von Prillieux und Delacroix, Marchal und Beijerinck, und kommt zu dem Schlusse, daß die Einzelbeobachtungen dieser Forscher, untereinander sich vielfach widersprechend, bedeutender Ergänzung bedürfen.

Einige kurze Arbeiten über Monilia fructigena, Bacillus Phaseoli, eine Bohnenkrankheit durch Artotrogus de Baryanus verursacht, die Pilze und das Wetter folgen.

von Schrenk (St. Louis).

Entwickelungshemmung und Vernichtung der Bakterien etc.

Schott, A., Ueber die Anwendbarkeit des Formaldehyds zur Verhinderung der Zersetzung von Zuckerlösungen. (Zeitschr. des Vereins der deutschen Zuckerindustrie. Liefg. 531. p. 434—437.)

In den Zuckerfabriken entsteht häufig ein beträchtlicher Schaden durch das Auftreten von Milch- und Buttersäurebildnern. Es lag nun nahe zu untersuchen, ob durch Zusatz von Formalin diese ungünstige Gärung verhindert werden könne. Zu diesem Zwecke wurden verschiedene Syrupe, denen noch einige Tropfen frischen Rübensaftes zugesetzt worden waren, mit saurer Milch geimpft und dann mit Formaldehyd in der Weise versetzt, daß Verdünnungen von 1:100 bis zu 1:1000000 entstanden. Es ergab sich dabei, daß das Formaldehyd schon bei einer Verdünnung von 1:1000 kaum noch wirkt, was eine Verwendung desselben in der gedachten Weise ausschließt.

Berücksichtigenswert auch für andere Formalinversuche ist es übrigens, daß das käufliche Formalin, das gewöhnlich als 40-proz. Formaldehydlösung angenommen wird, bei der Nachuntersuchung, die nach der Legler'schen Methode ausgeführt wurde, nur einen Gehalt von 18,8 Proz. Formaldehyd aufwies.

Appel (Charlottenburg).

Van Voss, A. J. Heerma, Ueber die Anwendbarkeit der Fluorverbindungen zur Verhinderung der Gärung auf der Diffusionsbatterie. (Zeitschr. des Vereins der deutschen Zuckerindustrie. Liefg. 531. p. 438—440).

Die Salze der Fluorsäure werden schon seit längerer Zeit in der Spiritusindustrie zur Unterdrückung nicht gewünschter Gärungen mit Erfolg angewendet. Auch für die Rübenzuckerindustrie ist es nachgewiesen, daß Fluorverbindungen in Raffinade- und Melasselösungen gärungshemmend wirken, doch schreitet dabei die Inversion fort, wenn bereits Invertin gebildet ist.

Noch nicht genauer bekannt war es, wie weit auch die Inversion des Rübensaftes durch Zusatz von Fluor zu verhindern sei. Verf. machte nun 2 Reihen von Versuchen, in denen er einerseits Fluoraluminium, andererseits Fluorammonium von 10—300 mgr pro Liter zusetzte und beobachtete, daß selbst 300 mgr pro Liter noch nicht imstande sind, die Invertzuckerbildung ganz zu verhindern, wohl aber tritt eine wesentliche Hemmung in dem Prozesse der Invertierung ein. Das beste Resultat wurde erzielt mit einem Zusatze von 150 mgr Fluorammonium auf 1 Liter, bei welchem die Vermehrung des Invertzuckers in 30 Tagen nur 0,178 Proz. betrug. Ein größerer Zusatz ergab ein viel ungünstigeres Resultat, so daß das Optimum bei 150 mgr Zusatz zu liegen scheint. Fluorammonium eignet sich wegen seiner Löslichkeit besser wie Fluoraluminium, doch ist es zu teuer, um allgemein und dauernd Anwendung zu finden.

Appel (Charlottenburg).

Jahresbericht des Sonderausschusses für Pflanzenschutz 1899. Bearbeitet von Appel-Berlin, Brick-Hamburg, Edler-Jena, Eidam-Breslau, Frank-Berlin, Gisevius-Königsberg, Gutzeit-Königsberg, Heinrich-Rostock, Herfeldt-Bonn, Hollrung-Halle, Huntemann-Wildeshausen, Kellermann-Lindau, Kirchner-Hohenheim, Klebahn-Hamburg, Klein-Karlsruhe, König-Münster, Ludwig-Greiz, von Oppenau-Colmar, Reichelt-Friedberg, Schulz-Neustadt a. H., von Seelhorst-Göttingen, Sorauer-Berlin, Steglich-Dresden, Weiss-Weihenstephan, Wiegand-Leipzig, Wittmack-Berlin; zusammengestellt von Frank und Sorauer. (Arbeiten der Deutschen Landwirtschafts-Gesellschaft. Heft 50. 258 p.)

Seit im Jahre 1893 der erste dieser Berichte erschien, ist der Umfang derselben mit jedem neuen Jahrgange gewachsen, so daß der vorliegende sich aus über 3000 Einzelangaben zusammensetzt. 2011 Berichte [1]) stammen nach der in der Einleitung gegebenen Einzelaufrechnung von den einzelnen Mitarbeitern, außerdem haben dieselben 218 Fragekarten beantwortet, während 860 Einzelnotizen aus Zeitungen von Dr. Krüger gesammelt und eingefügt wurden. Zwei Neuerungen sind diesmal zu verzeichnen, erstens ist jedem Orte eine genauere Angabe seiner Lage (Kreis, Bezirk etc.) beigefügt worden, wodurch eine leichtere Orientierung möglich ist, und zweitens ist eine Uebersicht über die Witterung Deutschlands im Jahre 1899 von Dr. Less aufgenommen worden. Am Schlusse findet sich, wie bereits seit mehreren Jahren, eine „Uebersichtliche Zusammenfassung der praktisch wichtigen Ergebnisse aus den Berichten über Pflanzenschutz vom Jahre 1899“, von Frank bearbeitet.

Wenn auch im allgemeinen auf den Bericht selbst verwiesen werden muß, so verdienen doch einige Punkte hier hervorgehoben zu werden. Eigentümlicherweise hat sich der Steinbrand des Weizens mehr als sonst gezeigt und nicht unbeträchtlichen Schaden angerichtet. Es erscheint dies deshalb auffallend, weil sowohl die Kupferbeizung, wie die Heißwasserbehandlung im allgemeinen sehr gute Resultate liefern und besonders erstere sich in einzelnen Gegenden vollkommen eingebürgert hat, so daß damit der Beweis erbracht ist, daß die Methode sich sehr wohl in die gesamte Landwirtschaft einzuführen vermag. Die Staubbrandarten finden sich alljährlich, bringen aber bei weitem nicht den Schaden, wie der Steinbrand. Die Rostarten des Getreides sind diesmal etwas mehr auseinander gehalten worden und fangen wir dadurch an, einen Ueberblick über die Verbreitung der einzelnen Arten zu bekommen. Leptosphaeria herpotrichoides ist in ganz Norddeutschland nachgewiesen, da-

---

1) In der Zusammenfassung auf Seite 1 heißt es 1978 Berichte. Diese Zahl ist jedoch falsch, der irrtümlich als vom Ref. herrührend 37 Berichte aufgezählt sind, während sich im Texte 70 befinden. Wie weit die Zahlen der anderen Mitarbeiter stimmen, habe ich nicht kontrolliert. D. Ref.

gegen scheint dieser Pilz in Süddeutschland zu fehlen oder übersehen zu sein, da er außer in Unterfranken von keinem anderen Orte gemeldet ist. Ophiobolus herpotrichus scheint in Deutschland ganz allgemein verbreitet zu sein; es werden Schädigungen bis 75 Proz. der Gesamternte auf sein Auftreten zurückgeführt. Bezüglich seines Auftretens, wie auch der Beeinflussung durch Bestellzeit, Vorfrucht, Düngung und Witterung gehen die Meinungen noch sehr auseinander, so daß es wichtig erscheint, daß diesem Pilze besondere Aufmerksamkeit zugewandt wird. Auch die Weizenblattpilze (Septoria etc.) traten im Berichtjahre mehr in den Vordergrund. Die Rüben-Nematode breitet sich noch besonders im Hafer aus. Der Getreideblasenfuß brachte Schädigungen bis 30 Proz.; Gegenmittel scheinen nicht bekannt zu sein. Fritfliege und Halmfliege (Clorops taeniopus) haben in diesem Jahre nicht allzu großen Schaden gebracht, dagegen trat die Blumenfliege (Hylemyia coarctata) in Posen, Brandenburg und Württemberg stark auf. Tipulidenlarven brachten stellenweise an junger Getreidesaat erheblichen Schaden. Ebenso Cephus pygmaeus; die diesen Schädiger zugeschriebene Erscheinung des Weißwerdens der Aehren bedarf noch näherer Aufklärung. Der Drahtwurm, der alljährlich strichweise Schaden verursacht, wurde in Westfalen in der Weise bekämpft, daß Kinder die gelbwerdenden Pflanzen ausstachen; die Kosten beliefen sich für einen Hektar auf M. 20. Die Mäuse haben im Jahre 1899 großen Schaden verursacht, eine einheitliche Bekämpfung wird jedoch noch kaum in größerem Maßstabe durchgeführt; darauf ist es wohl auch zurückzuführen, daß über die Wirksamkeit der verschiedenen Mittel noch keine festbegründeten Urteile bestehen.

An Rüben ist dies Jahr eine Schorfkrankheit besonders häufig und schädigend beobachtet worden. Genaues ist über diese Krankheit noch nicht bekannt; es scheint, als ob, begünstigt durch Boden- und Witterungsverhältnisse, Bakterien eine Rolle dabei spielen. Gegen die Rübenfliege (Anthomyia conformis) wurden chemische Mittel ohne Erfolg angewandt. Außer diesen spezifischen Rübenschädigern kamen auch noch hier Verluste durch allgemeine Plagen, wie Engerlinge, Drahtwürmer, Mäuse u. s. w. zur Beobachtung.

Die Kartoffeln hatten in diesem Jahre verhältnismäßig wenig zu leiden, nur in einzelnen Fällen konnte eine größere Schädigung konstatiert werden.

Auf Leguminosen trat besonders auf: Uromyces Fabae auf Pferdebohnen, Cryptosporium leptostromiforme auf gelben Lupinen. Dieser letztgenannte Pilz wird nur aus der Mark angegeben, doch scheint er, nach inzwischen an den Ref. gelangten Berichten, im vergangenen Jahre viel verbreiteter gewesen zu sein. Der Kleeseide ist schwer Herr zu werden; trotzdem zahlreiche Polizeiverordnungen zur Vertilgung von Cuscuta bestehen, ist dieselbe besonders in Bayern und dem Elsaß außerordentlich verbreitet. Die übrigen Schädiger der Leguminosen, wie Gloeosporium, Sclero-

tinia, Orobanche, Erbsenkäfer, Erbsenwickler etc. sind dies Jahr weniger hervorgetreten.

Eine Reihe anderer Kulturpflanzen haben schwerer zu leiden gehabt. In erster Linie ist der Gurkenbau in Sachsen und Franken durch das starke Auftreten von Gloeosporium Lagenarium schwer geschädigt worden; Plasmodiophora Brassicae breitet sich in vielen Gegenden mehr und mehr aus, auch die Bakterienfäule des Kohls wurde mehrfach beobachtet. Auf dem Meerrettig trat, außer den gewöhnlichen Schädigern: Orobanche ramosa und Cystopus, bei Prichsenstadt ein Käfer, Phaëdon cochleariae, in solchen Massen auf, daß der Meerrettigbau in dieser Gegend in Frage gestellt ist.

An den Obstgehölzen fanden sich wieder mehr oder weniger schwer schädigend der Gitterrost der Birnbäume, die Monilia-Krankheit, die zwar auf den Kirschen etwas schwächer, wie in den Vorjahren, dagegen auch auf Apfel, Pfirsich, Aprikose, Pflaume und Zwetsche vorgekommen ist; auch Fusicladium trat wieder strichweise schädigend auf, ebenso Clasterosporium Amygdalearum und Exoascus an Pfirsichen. Vor den tierischen Schädlingen der Obstbäume hatten dies Jahr die meiste Bedeutung Blutlaus, Schildläuse, Frostspanner und Gespinstmotten.

Der Wein hat dies Jahr weniger unter der Peronospora zu leiden gehabt, in außerordentlicher Weise dagegen durch Oïdium. Auch der Heu- und Sauerwurm hat in manchen Strichen wieder argen Schaden (bis 80 Proz.) gebracht. Appel (Charlottenburg).

Neue Litteratur,

zusammengestellt von

San.-Rat Dr. Arthur Würzburg,

Bibliothekar im Kaiserl. Gesundheitsamte in Berlin.

Untersuchungsmethoden, Instrumente etc.

Boni, J., Methode zur Darstellung der Bakterienkapsel auch in festen Nährböden. (Münch. med. Wchschr. 1900. No. 37. p. 1262—1263.)

Systematik, Morphologie und Biologie.

Barker, B. J. P., Saccharomyces anomalus. (Annals of botany. 1900. June.)

Jacobasch, E., Neuere Beobachtungen über Lanossa nivalis, den Schneepilz. (Dtsche botan. Mtsschr. 1900. Heft 7. p. 105—107.)

Jacoby, M., Ueber die fermentative Eiweißspaltung und Ammoniakbildung in der Leber. (Hoppe-Seyler's Ztschr. f. physiol. Chemie. Bd. XXX. 1900. Heft 1/2. p. 149—173.)

— —, Ueber das Aldehyde oxydierende Ferment der Leber und Nebenniere. (Ibid., p. 135—148.)

Rübsaamen, E. H., Ueber Zoocecidien von der Balkanhalbinsel. (Illustr. Ztschr. f. Entomol. 1900. No. 12—16. p. 177—180, 194—197, 213—216, 230—232, 245—248.)

Stäger, R., Vorläufige Mitteilung über Impfversuche mit Gramineen bewohnenden Claviceps-Arten. (Botan. Centralbl. 1900. No. 31. p. 145.)

Webster, H., Naucoria Christinae. (Rhodora. 1900. No. 18. p. 127—129.)

Williams, P. W., Some peculiarities in the life-history of microbes. (Veterin. Journ. 1900. No. 9. p. 123—127.)

Beziehungen der Bakterien und Parasiten zur unbelebten Natur.

Luft und Wasser.

Valenti, G. L. e Ferrari-Lelli, F., Osservazioni numeriche sui microrganismi dell'aria atmosferica di Modena. (Estratto d. Atti d. R. Accad. di scienze, lettere ed arti in Modena.) 4°. 17 p. Modena 1900.

Nahrungs- und Genußmittel im allgemeinen, Gebrauchsgegenstände.

Abba, F., Sulla disinfezione dei libri. (Riv. d'ig. e san. pubbl. 1900. No. 16. p. 564—572.)

Schimper, A. F. W., Anleitung zur mikroskopischen Untersuchung der vegetabilischen Nahrungs- und Genußmittel. 2. Aufl. gr. 8°. VIII, 158 p. Mit 134 Abbild. Jena (Gustav Fischer) 1900. 4 M.

Milch, Molkerei.

Hanus, J. u. Stocký, A., Ueber die chemische Einwirkung der Schimmelpilze auf die Butter. (Ztschr. f. Untersuch. d. Nahrungs- u. Genußmittel etc. 1900. Heft 9. p. 606—614.)

Bier, Brauerei.

Zusammenstellung, übersichtliche, der Erfindungen auf dem Gebiete des Pasteurisierens von Bier. (Wchschr. f. Brauerei. 1900. No. 31—33. p. 478—483, 491—497, 510—515.)

Wein, Weinbereitung.

Carles, P., Vinification des mouts saturés de soufre. (Rev. de viticult. 1900. No. 347. p. 144—145.)

Fallot, B. et Michon, L., Sur la diastase inversive du saccharose dans les vins blancs. (Rev. de viticult. 1900. No. 347—349. p. 141—144, 179—181, 197—201.)

Beziehungen der Bakterien und Parasiten zu Pflanzen.

Harmlose Bakterien und Parasiten.

Paratore, E., Ricerche istologiche sui tubercoli radicali delle leguminose. 8°. 26 p. Genova (Tip. Ciminago) 1900.

Krankheitserregende Bakterien und Parasiten.

Alwood, W. B., The crop pest law. (Virginia agricult. experim. stat. Bullet. 1899. No. 112. N. S. Vol. VIII. 1900. No. 7. p. 129—152.)

Baldrati, J., Rossore, perforazione e antracnosi punteggiata della vite. (Estr. d. Italia agricola. 1900. No. 6.) 8°. 4 p. Piacenza (Tip. V. Porta) 1900.

Beyer, R., Zur Geschichte der Verbreitung der Reblaus in Deutschland. (Naturwissenschaftl. Wchschr. 1900. No. 26, 28, 31, 32. p. 301—310, 328—330, 361—370, 379—381.)

van Breda de Haan, J., Die Lebensgeschichte des Tabaksälchens (Heterodera radicicola) und seine Bekämpfung in Deli (Sumatra). (Bullet. de l'Instit. botan. de Buitenzorg. 1900. No. 4. p. 1—10.)

Brin, F., La cochylis. (Rev. de viticult. 1900. No. 333. p. 500—502.)

Earle, F. S., Diseases of cotton. (Alabama experim. stat. Bullet. 1900. No. 107. p. 289—330.)

Eriksson, J., Tabellarische Uebersicht der in Schweden auftretenden Getreiderostpilzformen. (Ztschr. f. Pflanzenkrankh. Bd. X. 1900. Heft 3/4. p. 142—146.)

Franceschini, F., Per combattere la Diaspis pentagona. Memoria. (Atti d. quarto congr. nazionale di bacol. e sericolt., 4.—6. settembre 1898. 1899.)

Girard, M., Traitement de la maladie des tomates. (Bullet. hortic., agric. et apic. 1900. p. 112.)

Jacky, E., Der Chrysanthemum-Rost. (Ztschr. f. Pflanzenkrankh. Bd. X. 1900. Heft 3/4. p. 132—142.)

v. Jaczewski, A., Ueber eine Pilzerkrankung von Casuarina. (Ztschr. f. Pflanzenkrankh. Bd. X. 1900. Heft 3/4. p. 146—148.)

Massalongo, C., Sopra una nuova malattia delle foglie di Aucuba japonica Thunb. (Bullett. d. soc. botan. ital. 1900. No. 6. p. 166—167.)

Miyoshi, M., Untersuchungen über die Schrumpfkrankheit des Maulbeerbaumes. (Botan. Centralbl. 1900. No. 37. p. 346—347.)

Mohr, K., Versuche über die Bekämpfung der Blutlaus mittels Petrolwasser. (Ztschr. f. Pflanzenkrankh. Bd. X. 1900. Heft 3/4. p. 154.)

Morgenthaler, J., Der echte Mehltau. Oidium Tuckeri Berk. 2. Aufl. gr. 8⁰. 35 p. Mit Abbildungen. Aarau (Emil Wirz) 1900. 0,60 M.

Müller-Thurgau, H., Hexenbesen an Kirschbäumen. (Schweizer. Ztschr. f. Obst- u. Weinbau. 1900. No. 15. p. 227—229.)

Munro, Æ., Locust plague and its suppression. 8⁰. London (J. Murray) 1900. 1 £ 4 sh.

de Nobele, L., Sur quelques champignons parasites des arbres fruitiers. (Bullet. d'arboricult. et de floricult. potagère. 1900. p. 147—150.)

Nypels, P., Maladies de plantes cultivées. V. Une maladie épidémique de l'aune commun, Alnus glutinosa Gärtn. (Bullet. de la soc. belge de microsc. T. XXV. 1898/99. No. 8. p. 95—104.)

Pfeiffer, H., Der Weinstock-Fallkäfer (Eumolpus vitis F.). (Weinlaube. 1900. No. 31, 32. p. 361—362, 373—376.)

Pospjelow, W., Die Parasiten der Hessenfliege in Rußland. (Illustr. Ztschr. f. Entomol. 1900. No. 17. p. 261—264.)

Potel, H., As molestias cryptogamicas da batata ingleza (Solanum tuberosum) e seu tratamento. (Bolet. do Instit. agronom. do Estado de São Paulo em Campinas. Vol. X. 1900. No. 11/12. p. 795—799.)

— —, Molestias cryptogamicas da batata ingleza e seu tratamento. (Bolet. da agricult. do Estado de São Paulo. Ser. I. 1900. No. 1. p. 45—48.)

Prunet, A., Le black rot et son traitement. (Rev. de viticult. 1900. No. 327, 331, 332, 334, 336. p 325—329, 437—442, 470—473, 521—530, 583—589.)

Reh, L., Ueber den Erbsenkäfer. Kritisches Referat. (Ztschr. f. Pflanzenkrankh. Bd. X. 1900. Heft 3/4. p. 241—244.)

Roze, E., L'Urédo Chrysanthemi, parasite du Chrysanthemum indicum L. et le Puccinia Chrysanthemi, cause de la rouille du Chrysanthemum indicum L. (Extr. du Bullet. de la soc. mycol. de France.) 20 p. 8⁰. Lons-le-Saunier 1900.

Sahut, F., La défense du vin et la découverte du phylloxera. Discours. 36 p. 8⁰. Montpellier (Coulet & fils) 1900. 0,50 fr.

Smith, R. E., Botrytis and Sclerotinia: Their relations to certain plant diseases and to each other. (Botan. gaz. Vol. XXIX. 1900. No. 6. p. 369—407.)

Sorauer, P., Erkrankungsfälle durch Monilia. (Ztschr. f. Pflanzenkrankh. Bd. X. 1900. Heft 3/4. p. 148—154.)

Sorauer, P., Schutz der Obstbäume gegen Krankheiten. Ein praktischer Ratgeber zur Erkennung, Abhaltung und Bekämpfung der die Gesundheit unserer Obstbäume beeinträchtigenden Zustände und Krankheiten. Zugleich 2. Aufl. der Schrift: Schutz der Obstbäume gegen Krankheiten, von E. Lucas. (Schutz der Obstbäume gegen feindliche Tiere u. gegen Krankheiten. Bd. II.) gr. 8⁰. Mit 110 in den Text gedr. Abbildungen. XVI, 238 p. Stuttgart (Eugen Ulmer) 1900. 4,20 M.

Soresi, G., La diaspis pentagona del gelso. Norme per combatterla. 16 p. 8⁰. Milano (Tip. agrar.) 1900.

Sostegni, L., Sulla questione del solfato di rame e dei rimedi antiperonosporici. (Estr. d. Giorn. di viticolt. e di enolog. 1899.) 8⁰. 15 p.

Steglich, Die Blattfallkrankheit der Reben und ihre Bekämpfung. (Sächs. landwirtschaftl. Ztschr. 1900. No. 31. p. 369—371.)

Stift, A., Die Krankheiten der Zuckerrübe. gr. 8°. VIII, 115 p. Mit 16 farb. lith. Taf. Wien (Wilhelm Frick) 1900. 6 M.

d'Utra, G., Extinção de algunas parasitas do cafeeiro. (Bolet. do Instit. agronom. do Estado de São Paulo em Campinas. 1899. No. 11/12. p. 778—785.)

— —, Molestias vermiculares do cafeeiro. (Bolet. da Agricult. do Estado de São Paulo. Ser. I. 1900. No. 1. p. 1—16.)

Woods, A. F., Stigmonose: a disease of carnations and other pinks. (U. S. Departm. of agricult. Divis. of vegetable physiol. and pathol. Bullet. 1900. No. 19.) 8°. 30 p. Washington (Govern. print. office) 1900.

Zimmermann, A., Ueber den Krebs von Coffea arabica, verursacht durch Rostrella Coffeae gen. et sp. n. (Bullet. de l'Instit. botan. de Buitenzorg. 1900. No. 4. p. 19—22.)

Entwickelungshemmung und Vernichtung der Bakterien.

Haywood, J. K., The adulteration and analysis of the arsenical insecticides. (Journ. of the Amer. chem. soc. 1900. No. 9. p. 568—582.)

Inhalt.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.

CENTRALBLATT

für

Bakteriologie, Parasitenkunde u. Infektionskrankheiten.

Zweite Abteilung:

Allgemeine, landwirtschaftlich-technologische Bakteriologie, Gärungsphysiologie, Pflanzenpathologie und Pflanzenschutz.

In Verbindung mit
Prof. Dr. **Adametz** in Wien, Prof. Dr. **J. Behrens** in Weinsberg i. W., Prof. Dr. **M. W. Beijerinck** in Delft, Dr. **v. Freudenreich** in Bern, Privatdocent Dr. **Lindau** in Berlin, Prof. Dr. **Lindner** in Berlin, Dr. **Morris**, Chef des Hansen-Laboratory, Jenner-Institute of Preventive Medicine in London, Prof. Dr. **Müller-Thurgau** in Wädensweil, Dr. **Erwin F. Smith** in Washington, D. C., U. S. A., Prof. Dr. **Stutzer** in Breslau, Prof. Dr. **Wehmer** in Hannover, Prof. Dr. **Weigmann** in Kiel und Prof. Dr. **Winogradsky** in St. Petersburg

herausgegeben von

Dr. O. Uhlworm in Cassel

und

Prof. Dr. Emil Christian Hansen in Kopenhagen.

Verlag von Gustav Fischer in Jena.

VI. Bd. **Jena,** den 20. November 1900. **No. 22.**

Jährlich erscheinen 26 Nummern. Preis für den Band (Jahrgang) 20 Mark. Preis für eine einfache Nummer 75 Pfg., für eine Doppelnummer 1 Mark 50 Pfg. Nummern mit Tafeln kosten für jede Tafel 50 Pfg. mehr.

Hierzu als regelmäfsige Beilage die Inhaltsübersichten der I. Abteilung des Centralblattes.

Wünsche wegen Lieferung von besonderen Abdrücken wollen die Herren Mitarbeiter auf die Manuskripte schreiben oder bei Rücksendung der ersten Korrekturabzüge der Verlagsbuchhandlung mitteilen.

Original-Mitteilungen.

Der Einfluss der Kohlensäure auf die Gärung.

[Mitteilungen aus der vom Kgl. bayer. Staate subventionierten Versuchsstation für Bierbrauerei zu Nürnberg.]

Von Dr. **Hugo Ortloff.**

(Fortsetzung.)

Die Darstellung des Hefewassers geschah auf folgende Weise: Ungefähr 1 l gewöhnliche Brauereihefe wurde durch Dekantation

Gärung in Erlen

Nach	Saaz (nach Hess) 4	8	14	28
Zuckerlösung %	9,84	9,84	9,84	9,84
Rohrzucker invertiert in g	9,84	9,84	9,84	9,84
" " in %	100,0	100,0	100,0	100,0
" vergoren in g	2,60	5,166	7,34	9,84
" " in %	26,42	52,50	74,50	100,0
Dextrose vorhanden in g	3,09	1,76	0,582	—
" " in %	40,55	35,97	22,17	—
Lävulose " in g	4,53	3,15	2,042	—
" " in %	59,44	64,02	77,82	—
Alkohol " in g	1,08	2,62	3,40	4,95
" " in % des vergorenen Zuckers	41,60	50,72	46,32	50,30
Säuren:				
direkt titriert in ccm	10,16	14,76	26,36	23,89
fixe organische Säuren in ccm	4,50	8,50	12,30	14,33
flüchtige " " " "	5,66	6,26	14,06	9,56
Aussaat in cbmm:				
Zellen vor der Gärung	19,354	19,354	19,354	19,354
" nach " "	28 240	29 120	29 600	29 600
Vermehrung	1 459	1,504	1 529	1 529
1 Million Zellen geben:				
Alkohol in mg	0,385	0,885	1,16	1,66
vergorener Rohrzucker in mg	0,92	1,74	2,52	3,83
1 Million Zellen liefern Säure:				
fixe organische Säuren in ccm	0,0016	0,0037	0,0042	0,0049
flüchtige " " " "	0,0020	0,0021	0,0048	0,0036

mit Brunnenwasser bis zur zuckerfreien Reaktion von den daran hängenden Würzeresten befreit, alsdann auf ein Filter gebracht, mit der Saugpumpe das Wasser abgesaugt und mit destilliertem Wasser nachgewaschen. Nunmehr wurde die Hefe mit ungefähr 3 l Wasser angeschüttelt und $^1/_2$ Stunde gekocht, filtriert, nochmals gekocht und wiederum filtriert. Das so erhaltene Hefewasser wurde auf 5—6 l verdünnt, auf Erlenmeyer'sche Kolben gefüllt und sterilisiert. In dem steril gemachten Hefewasser, das selbstverständlich vollkommen zuckerfrei sein mußte, wurden die Säuren (nach Prior) und der Gehalt an Stickstoff bestimmt. Die Bestimmung des Stickstoffs wurde ausgeführt nach der Methode von Kjeldahl mit der Modifikation von Willfahrt, der zur Oxydation metallisches Quecksilber verwendet [1]).

Ich lasse der Uebersichtlichkeit halber hier gleich die Ausführung der gesamten Untersuchung folgen:

Die Zuckerbestimmung wurde nach der Kjeldahl'schen Methode ausgeführt, zu welcher eine Kupfervitriol- sowie Natron-Seignettesalzlösung nötig ist [2]).

1) Prior, Chemie und Physiologie des Malzes und des Bieres. p. 71.
2) Ebenda. p. 223 ff.

meyer-Kolben.

Frohberg (nach Hess)				Logos (nach Hess)			
4	8	14	28	4	8	14 Tagen	
9,77	9,77	9,77	9,77	9,93	9,93	9,76	Bereits nach 14 Tagen ist aller Rohrzucker vergoren
9,77	9,77	9,77	9,77	6,76	9,93	9,76	
100,0	100,0	100,0	100,0	69,54	100,0	100,0	
3,21	5,49	6,19	7,11	4,65	8,94	9,76	
30,43	56,25	63,42	72,77	47,84	90,03	100,0	
2,998	2,13	1,31	0,799	1,13	0,614	—	
43,38	47,43	34,84	28,48	50,67	59,03	—	
3,912	2,36	2,45	2,006	1,10	0,426	—	
56,61	52,56	65,15	71,51	49,32	40,96	—	
1,49	2,89	3,22	3,6	2,30	4,46	5,0	
46,41	52,60	52,02	50,63	49,46	49,88	51,22	
12,76	14,28	17,86	18,16	15,71	18,56	23,02	
8,1	9,16	12,0	12,56	9,85	13,76	14,36	
4,66	5,12	5,86	5,6	5,86	4,8	8,66	
19,67	19,67	19,67	19,67	19,24	19,361	19,361	
21 840	32 000	32 640	32 640	56 000	58 500	59 040	
1 110	1 626	1 659	1 659	2 910	3 021	3 049	
0,68	0,90	0,99	1,10	0,41	0,76	0,84	
1,47	1,71	1,89	2,17	0,83	1,52	1,65	
0,0037	0,0028	0,0036	0,0038	0,0026	0,0023	0,0024	
0,0021	0,0016	0,0017	0,0017	0,0010	0,0008	0,0014	

Die Inversion wurde auf folgende Weise ausgeführt: 25 ccm der zu untersuchenden Flüssigkeit wurden in einem 100 ccm-Kolben mit 50 ccm destillierten Wassers und 3 ccm rauchender Salzsäure 10 Minuten lang im Wasserbade erhitzt und zwar 5 Minuten auf 69—70° C und weitere 5 Minuten auf 70—71° C. Sodann wurde der Kolben rasch abgekühlt, die Salzsäure mit eingestellter Natronlauge genau neutralisiert, auf 100 ccm aufgefüllt und von dieser Lösung in entsprechender Verdünnung die Zuckerbestimmung ausgeführt.

Die Polarisation resp. die Drehung der Flüssigkeit wurde im Halbschattenapparat von Schmidt & Haensch bestimmt.

Die Säurebestimmung wurde nach der von Prior[1]) angegebenen Methode ausgeführt.

Zur Alkoholbestimmung wurden 75 ccm der zu untersuchenden Flüssigkeit abdestilliert und das Destillat in einem genau abgewogenen, graduierten, langhalsigen Pyknometer aufgefangen. Zur Berechnung diente die Hehner'sche Tabelle.

Die Dextrose und Lävulose wurde aus der gefundenen Invertzuckerzahl und der Drehung der Flüssigkeit nach Prior[2]) berechnet.

1) Prior, a. a. O. p. 80.
2) Prior, a. a. O. p. 164.

Gärung in Chudiakoff-Kolben

Nach	Saaz 4	8	14	28
Zuckerlösung %	9,87	9,87	9,87	9,87
Invertzucker vorhanden in g	8,432	5,212	3,276	0,840
Rohrzucker vorhanden in g	0,191	—	—	—
„ vergoren in g	1,67	4,72	6,76	9,06
„ „ in %	16,91	47,82	67,78	91,79
„ invertiert in g	9,679	9,87	9,87	9,87
„ „ in %	98,05	100,0	100,0	100,0
Beobachtete Drehung	— 4°	— 3,50°	— 3,0°	— 1,2°
Drehung des vorhandenen Rohrzuckers	+ 0,25°	—	—	—
„ „ „ Invertzuckers	— 4,25°	— 3,50°	— 3,0°	— 1,2°
Dextrose vorhanden	3,998 g = 47,4 %	2,18 g = 41,83%	1,102 g = 33,62%	0,138 g = 16,42%
Lävulose „	4,434 g = 52,58%	3,032 g = 58,17%	2,174 g = 66,37%	0,702 g = 83,57%
Alkohol „ in g	0,774	2,18	3,233	4,45
„ „ in % des vergorenen Zuckers	46,34	45,97	47,75	48,01
Säuren:				
direkt titriert in ccm	7,2	13,6	20,4	22,4
fixe organische Säuren in ccm	5,6	10,8	14,4	16,4
flüchtige „ „ „ „	2,0	3,6	6,2	7,2
Aussaat in cbmm:				
Zellen vor der Gärung	19,8	19,8	19,8	19,8
„ nach „ „	21 672	24 328	24 664	24 664
Vermehrung	1 094	1 228	1 245	1 245
1 Million Zellen geben:				
Alkohol in mg	0,357	0,896	1,310	1,783
vergorenen Rohrzucker in mg	0,770	1,940	2,700	3,673
1 Million Zellen liefern Säure:				
direkt titriert in ccm	0,0033	0,0056	0,0082	0,0090
fixe organische Säuren in ccm	0,0025	0,0044	0,0058	0,0066
flüchtige „ „ „ „	0,0009	0,0014	0,0025	0,0029

Die Analysierung der Versuche, bei denen die Kohlensäure in Anwendung kam, gestaltete sich genau ebenso, wie diejenige bei den gewöhnlichen Versuchen; jedoch war die Anordnung eine wesentlich verschiedene.

Die zu diesen Versuchen verwandten Gärgefäße waren, ähnlich den von Chudiakow benutzten, nach Zeichnungen und Maßangaben von Desaga in Heidelberg angefertigt; der Gestalt nach einem umgekehrten Erlenmeyer'schen Kolben gleichend, war dessen Hals zu einer Röhre ausgezogen, die an dem Kolben in die Höhe laufend, mit angeblasener Kugel und Ansatzende für den Schlauch versehen war. Der eigentliche Hals war auf dem Boden aufgesetzt. Der Inhalt dieser Kolben betrug ungefähr 400 ccm und nahm die zu jedem Versuche benutzte gleiche Menge von 150 ccm Gärflüssigkeit ungefähr die Hälfte der Höhe des Kolbens ein. Diese Gefäße wurden als zweckentsprechendste gewählt, weil die Gärflüssigkeit von der Kohlensäure gleichmäßig durchströmt und gleichzeitig eine beständige Bewegung und innige Berührung des Gases mit der Hefe herbeigeführt

im Kohlensäurestrom.

Frohberg				Logos			
4	8	14	28	4	8	14	21 Tagen
9,8	9,8	9,8	9,8	9,8	9,8	9,8	9,8
7,86	7,18	5,54	2,46	6,256	6,196	1,029	—
—	—	—	—	1,159	—	—	—
2,33	2,93	4,54	7,46	2,697	3,914	8,82	9,8
23,77	29,89	46,32	76,12	27,52	39,93	90,0	100,0
9,8	9,8	9,8	9,8	7,103	9,8	9,8	9,8
100,0	100,0	100,0	100,0	72,47	100,0	100,0	100,0
— 4,4°	— 4,9°	— 4,3°	— 3,5°	— 2,05°	— 2,75°	— [illegible]	± 0°
—	—	—	—	+ 1,54°	—	—	—
— 4,4°	— 4,9°	— 4,3°	— 3,5°	— 3,59°	— 2,75°	— 0,7°	—
3,58 g	2,97 g	2,12 g	0,407 g	2,82 g	3,06 g	0,428 g	—
= 45,56 %	= 41,47 %	= 38,3 %	= 16,54 %	= 45,06 %	= 49,38 %	= 41,59 %	
4,27 g	4,204 g	3,41 g	2,053 g	3,43 g	3,13 g	0,601 g	—
= 54,42 %	= 58,55 %	= 61,69 %	= 83,45 %	= 54,82 %	= 50,51 %	= 58,4 %	
1,07	1,36	2,1	3,73	1,34	1,94	4,47	4,96
45,92	46,4	46,25	50,0	49,63	49,74	50,45	50,61
7,6	9,6	14,4	19,2	12,0	14,4	20,0	24,0
5,6	7,2	10,0	14,8	9,6	9,6	12,8	16,4
2,0	2,4	4,8	5,6	2,8	4,8	6,8	7,2
19,2	19,2	19,2	19,2	20,1	20,1	20,1	20,1
15 040	16 800	20 080	25 840	27 280	27 920	32 320	33 040
783	875	1 045	1 345	1 357	1 388	1 607	1 643
0,711	0,809	1,045	1,443	0,491	0,694	1,383	1,501
1,549	1,744	2,260	2,887	0,988	1,401	2,729	2,966
0,0050	0,0057	0,0071	0,0074	0,0043	0,0051	0,0061	0,0072
0,0037	0,0041	0,0049	0,0057	0,0035	0,0034	0,0039	0,0049
0,0013	0,0015	0,0023	0,0021	0,0010	0,0017	0,0021	0,0021

wurde. Auf diese Gärgefäße wurden, wie bei den gewöhnlichen Versuchen, Kühler aufgesetzt, die ihrerseits wieder mit einem System von Waschflaschen verbunden waren. Es wurden bei den Versuchen mit Kohlensäure jedoch nicht nur 4, sondern 6 Waschflaschen angefügt, da konstatiert war, daß sich durch den während der Gärung entstehenden vermehrten Kohlensäurestrom sich in der 4., ja bisweilen in der 5. Waschflasche noch Alkohol vorfand. An die letzte Waschflasche wurde des öfteren ein Probierröhrchen angehängt, in welchem durch reduzierte Indigolösung auf das Vorhandensein von Sauerstoff geprüft wurde. Ganz wesentlich anders, als bei den gewöhnlichen Versuchen, gestaltete sich die Herführung und Impfung der einzelnen Heferassen. Bei den Versuchen im Kohlensäurestrom war es zunächst notwendig, die betreffende Hefe, mit welcher die Gärflüssigkeit geimpft werden sollte, im Kohlensäurestrom herzuführen, was auf folgende Weise bewirkt wurde: 4 kleine, ca. 100 ccm fassende Kölbchen wurden mit je einem gut schließenden, doppelt durchbohrten Gummistopfen versehen, durch dessen Oeffnungen zwei gleich-

	Pastorianus I			
Nach	4	8	14	28
Zuckerlösung %	9,58	9,58	9,93	9,93
Invertzucker vorhanden in g	6,512	5,168	4,588	2,224
Rohrzucker vorhanden in g	1,35	—	—	—
„ vergoren in g	2,04	4,412	5,57	7,82
„ „ in %	21,29	46,05	56,09	79,76
„ invertiert in g	8,23	9,58	9,93	9,93
„ „ in %	85,90	100,0	100,0	100,0
Beobachtete Drehung	— 3,7°	— 4,11°	— 3,9°	— 3°
Drehung des vorhandenen Rohrzuckers	+ 1,79°	—	—	—
„ „ „ Invertzuckers	— 5,49°	— 4,11°	— 3,9°	— 3°
Dextrose vorhanden	2,347 g = 36,04%	1,587 g = 30,71%	1,288 g = 28,07%	0,424 g = 19,06%
Lävulose „	4,165 g = 63,95%	3,581 g = 69,29%	3,3 g = 71,93%	1,8 g = 80,93%
Alkohol „ in g	0,994	2,214	2,8	3,94
„ „ in % des vergorenen Zuckers	48,72	50,18	50,27	50,38
Säuren:				
direkt titriert in ccm	8,4	13,6	19,2	23,2
fixe organische Säuren in ccm	5,2	8,4	14,8	15,0
flüchtige „ „ „ „	2,8	4,4	5,2	6,4
Aussaat in cbmm:				
Zellen vor der Gärung	19,6	19,6	20,03	20,03
„ nach „ „	18 328	24 328	25 928	30 264
Vermehrung	935	1 240	1 296	1 513
1 Million Zellen geben:				
Alkohol in mg	0,542	0,905	1,079	1,301
vergorenen Rohrzucker in mg	1,113	1,814	2,148	2,583
1 Million Zellen liefern Säure:				
direkt titriert in ccm	0,0045	0,0055	0,0074	0,0076
fixe organische Säuren in ccm	0,0029	0,0034	0,0057	0,0049
flüchtige „ „ „ „	0,0015	0,0016	0,0020	0,0021

lange, am oberen Ende rechtwinkelig abgebogene Glasröhren derart einführten, daß die eine bis nahe zum Boden des Kölbchens hineinragte, während die andere unter dem Stopfen endigte. In jedes dieser 4 Kölbchen wurden sodann ca. 30 ccm Saccharose-Hefewasserlösung gegeben und, vorerst mit Wattepfropfen versehen, steril gemacht. Andererseits wurden auch die in Anwendung kommen sollenden Gummistopfen mit den Glasröhren und Schläuchen in siedendem Wasser sterilisiert. Hierauf wurden die Wattepfropfen mit den Gummistopfen vertauscht und die 4 Kölbchen mittels der sterilen Schläuche miteinander verbunden. Das erste dieser 4 Kölbchen hatte noch eine besondere Anordnung der Impfvorrichtung: Der Gummistopfen desselben besaß nämlich 3 Bohrungen, durch welche außer den beiden gebogenen Röhren noch eine dritte senkrechte führte, auf deren oberes Ende mittels Druckschlauches ein durch eine abgesprengte 10 ccm-Pipette gebildetes cylinderförmiges Gefäßchen aufgesetzt war, welches unten durch Quetschhahn am Schlauch und oben durch Wattepfropfen verschließbar war. In dieses Gefäßchen wurden

meyer-Kolben.

Pastorianus II				Pastorianus III (nach Syrée)			
4	8	14	28	4	8	14	28 Tagen
9,58	9,58	9,58	Bereits nach 14 Tagen ist aller Rohrzucker vergoren	9,58	9,58	9,59	9,59
1,99	0,62	—		2,712	3,716	1,642	—
2,43	0,23	—		4,165	1,1	—	—
5,26	8,86	9,58		2,84	4,93	8,04	9,59
54,9	92,44	100,0		29,6	51,4	83,8	100,0
7,59	8,96	9,58		5,42	8,48	9,59	9,59
79,22	93,52	100,0		56,5	88,5	100,0	100,0
+ 0,6°	— 0,8°	± 0°		+ 4°	— 2,1°	— 2,3°	± 0°
+ 3,23°	+ 0,31°	—		+ 4,44°	+ 1,46°	—	—
— 2,63°	— 1,1°	—		— 0,44°	— 3,56°	— 2,3°	—
0,4 g	0,04 g	—		1,01 g	1,2 g	—	—
= 20,1 %	= 6,45 %			= 37,24 %	= 32,29 %		
1,59 g	0,58 g	—		1,7 g	2,52 g	1,642 g	—
= 79,89 %	= 93,54 %			= 62,68 %	= 68,08 %	= 100 %	
2,56	4,402	4,88		1,3	2,4	4,22	4,94
48,7	49,9	50,9		45,8	48,6	52,4	51,5
12,6	18,8	20,8		5,98	12,98	18,02	20,1
8,2	11,6	12,4		3,48	7,53	12,31	14,12
4,8	7,2	8,8		2,65	5,45	5,71	5,98
19,68	19,68	19,68		19,1	19,1	19,5	19,8
21 280	30 200	32 000		17 600	22 560	25 600	25 600
1 081	1 534	1 626		921	1 180	1 310	1 310
1,203	1,457	1,525		0,74	1,06	1,64	1,92
2,471	2,933	2,993		1,61	2,18	3,14	3,74
0,0059	0,0062	0,0065		0,0035	0,0057	0,0070	0,0078
0,0038	0,0038	0,0039		0,0020	0,0033	0,0048	0,0055
0,0022	0,0023	0,0027		0,0015	0,0024	0,0022	0,0023

zunächst, nach der Sterilisation desselben, einige Kubikcentimeter sterile Saccharose-Hefewasserlösung gegeben und dann zu derselben einige Tropfen in Bierwürze frisch gezüchteter Hefe zugefügt.

Der so zusammengestellte Apparat wurde in einen Wasserbadthermostaten von 25° C gestellt und durch alle 4 Kölbchen durch ein vorgelegtes steriles Wattefilter Kohlensäure hindurchgeleitet, um alle Luft aus dem Apparat zu vertreiben.

Nach 24 Stunden wurde nun der Quetschhahn am Schlauche des Aufsatzgefäßchens geöffnet und einige Tropfen der in letzterem frisch angekommenen Hefe in das erste Kölbchen herabgelassen. Nach dem Impfen des ersten Kölbchens wurde nach 24 Stunden das zweite aus dem ersten in der Weise geimpft, daß die unter dem Stopfen endende Röhre des ersten Kolbens bis nahezu auf den Boden des Gefäßes geschoben wurde. Bei gleichbleibendem Druck mußte die Flüssigkeit in die Röhre eindringen, und, nachdem eine kleine Quantität in dieselbe eingetreten war, wurde die Röhre wieder aus der Flüssigkeit herausgenommen und die wenigen in der Röhre verbliebenen Tropfen

Gärung in Chudiakoff-Kolben

	Pastorianus I			
Nach	4	8	14	28
Zuckerlösung %	9,63	9,63	9,63	9,63
Invertzucker vorhanden in g	4,544	6,492	4,73	2,844
Rohrzucker vorhanden in g	4,340	0,543	—	—
„ vergoren in g	0,98	2,919	5,13	6,93
„ „ in %	10,17	30,32	53,27	71,96
„ invertiert in g	5,29	9,087	9,63	9,63
„ „ in %	54,93	94,36	100,0	100,0
Beobachtete Drehung	+ 6°	— 4,6°	— 3,8°	— 4,0°
Drehung des vorhandenen Rohrzuckers	+ 5,77°	+ 0,72°	—	—
„ „ „ Invertzuckers	+ 0,23°	— 5,32°	— 3,8°	— 4,0°
Dextrose vorhanden	2,873 g =63,22%	2,392 g =36,84%	1,768 g =37,37%	0,49 g =17,22%
Lävulose „	1,671 g =36,77%	4,1 g =63,15%	2,962 g =62,62%	2,354 g =82,78%
Alkohol „ in g	0,434	1,476	2,61	3,53
„ „ in % des vergorenen Zuckers	43,87	50,56	50,89	50,93
Säuren:				
direkt titriert in ccm	6,0	14,2	15,8	20,0
fixe organische Säuren in ccm	3,6	10,4	12,2	16,0
flüchtige „ „ „ „	2,0	3,2	3,4	3,4
Aussaat in cbmm:				
Zellen vor der Gärung	20,43	20,43	20,43	20,43
„ nach „ „	15 600	21 128	23 400	31 000
Vermehrung	763	1 034	1 145	1 713
1 Million Zellen geben:				
Alkohol in mg	0,278	0,699	1,115	1,138
vergorenen Rohrzucker in mg	0,628	1,381	2,192	2,235
1 Million Zellen liefern Säure:				
direkt titriert in ccm	0,0038	0,0067	0,0067	0,0064
fixe organische Säuren in ccm	0,0023	0,0049	0,0052	0,0051
flüchtige „ „ „ „	0,0012	0,0015	0,0014	0,0010

durch den weiter herrschenden Druck in den zweiten Kolben hinübergedrückt. Auf diese Weise wurde das dritte Kölbchen aus dem zweiten und das vierte aus dem dritten geimpft. Nachdem die Hefe so durch mehrere Generationen gezüchtet war, konnte mit Sicherheit angenommen werden, daß die im letzten Kölbchen befindliche, zum Impfen dienende Hefe in einer vollkommen sauerstofffreien Atmosphäre gewachsen war.

Die Gärkolben waren nach Art der früher beschriebenen Versuche hergerichtet, d. h. mit einer 10-proz. Saccharose-Hefewasserlösung beschickt und in derselben Weise vorbereitet, wie schon oben beschrieben.

Zum Zwecke des Impfens selbst wurde wie folgt verfahren: Zunächst wurden die drei ersten Kölbchen des zum Herführen der Hefe dienenden Apparates ausgeschaltet und das letzte Kölbchen mit der frisch angekommenen Hefe auf der einen Seite mit der Kohlensäure durch sterile Wattefilter und auf der anderen Seite mit einem eigens konstruierten Impfkolben steril in Verbindung gebracht.

im Kohlensäurestrom.

Pastorianus II				Pastorianus III			
4	8	14	28	4	8	14	28 Tagen
9,34	9,34	9,34	9,34	9,93	9,93	9,87	9,87
6,252	7,136	5,330	1,968	6,344	7,712	2,802	—
1,360	0,12	—	—	3,048	—	—	—
2,04	2,44	4,276	7,47	0,855	2,61	7,208	9,87
21,84	26,12	45,78	79,99	8,61	26,28	73,02	100,0
7,98	9,22	9,34	9,34	6,882	9,93	9,87	9,87
85,43	98,71	100,0	100,0	69,30	100,0	100,0	100,0
— 0,16°	— 4,05°	— 4,05°	— 2,25°	+ 0,6°	— 4,16°	— 3,8°	± 0°
+ 1,8°	+ 0,16°	—	—	+ 4,05°	—	—	—
— 1,96°	— 4,21°	— 4,05°	— 2,25°	— 3,45°	— 4,16°	— 3,8°	± 0°
3,37 g	3,18 g	2,07 g	0,511 g	2,926 g	3,668 g	0,526 g	—
= 53,9 %	= 44,56 %	= 38,83 %	= 25,96 %	= 46,12 %	= 47,56 %	= 18,77 %	
2,88 g	3,95 g	3,26 g	1,457 g	3,418 g	4,044 g	2,276 g	—
= 46,06 %	= 55,35 %	= 61,16 %	= 74,03 %	= 53,87 %	= 52,43 %	= 81,22 %	
0,992	1,22	2,14	3,84	0,38	1,27	3,44	4,97
48,62	50,0	50,04	51,41	44,44	48,47	49,11	50,35
9,6	11,2	14,4	22,4	4,8	8,8	15,2	19,2
6,2	7,8	9,4	14,2	3,2	6,2	10,6	14,0
3,0	3,8	4,8	7,8	1,4	2,4	5,0	6,4
20,0	20,0	20,0	20,0	19,1	19,1	19,1	19,1
15 528	17 728	18 600	18 728	14 328	16 728	25 464	26 000
776	886	930	936	750	875	1 333	1 361
0,638	0,688	1,150	2,050	0,268	0,759	1,350	1,911
1,313	1,376	2,295	3,989	0,596	1,560	2,830	3,796
0,0061	0,0063	0,0077	0,0119	0,0033	0,0052	0,0059	0,0073
0,0039	0,0043	0,0050	0,0075	0,0022	0,0037	0,0041	0,0053
0,0019	0,0021	0,0025	0,0047	0,0009	0,0014	0,0019	0,0027

Der Impfkolben bestand aus einem Erlenmeyer'schen Kolben, dessen Oeffnung mit einem doppelt durchbohrten Gummistopfen verschlossen wurde. Durch die eine Bohrung desselben führte eine pipettenartig mit Kubikcentimetereinteilung versehene Glasröhre bis nahezu auf den Boden des Kolbens, durch die andere eine engere, ebenfalls gebogene Glasröhre, unter dem Stopfenende endigend. An den Enden der beiden Röhren außerhalb des Kolbens befanden sich Schlauchstücke, mittels Glasstopfen resp. Klemmschrauben verschließbar. In den Kolben wurde Wasser gegeben und durch Kochen desselben die Röhren nebst Schläuchen durch den ausströmenden Wasserdampf steril gemacht; alsdann wurde der Kolben mit einem genau gleichgroßen Erlenmeyer'schen Kolben vertauscht, welcher 100 ccm steriles Wasser enthielt.

Der so zum Gebrauche fertige Impfkolben wurde nun an der unter dem Stopfen endenden Röhre mittels sterilen Schlauches mit dem Hefekölbchen verbunden, die in der Flüssigkeit befindliche Luft durch Kohlensäure entfernt und nun von der aufgeschüttelten Hefe

Gärung in Erlen

	Ellipsoideus I			
Nach	4	8	14	28
Zuckerlösung %	9,9	9,9	9,9	Sämtlicher Rohrzucker ist bereits nach 14 Tagen vergoren
Invertzucker vorhanden in g	2,924	0,91	—	
Rohrzucker vorhanden in g	2,054	0,25	—	
„ vergoren in g	5,07	8,79	9,9	
„ „ in %	51,21	88,78	100,0	
„ invertiert in g	7,846	9,65	9,9	
„ „ in %	79,25	97,47	100,0	
Beobachtete Drehung	— 0,10°	— 1,0°	± 0°	
Drehung des vorhandenen Rohrzuckers	+ 2,73°	+ 0,33°	—	
„ „ „ Invertzuckers	— 2,83°	— 1,33°	—	
Dextrose vorhanden	0,931 g = 31,83%	0,139 g = 15,27%	—	
Lävulose „	1,993 g = 68,16%	0,771 g = 84,72%	—	
Alkohol „ in g	2,45	4,4	5,0	
„ „ in % des vergorenen Zuckers	48,3	50,0	50,5	
Säuren:				
direkt titriert in ccm	11,6	18,2	19,6	
fixe organische Säuren in ccm	8,8	12,8	14,0	
flüchtige „ „ „ „	3,2	4,6	5,6	
Aussaat in cbmm:				
Zellen vor der Gärung	21,2	21,2	21,2	
„ nach „ „	28 200	38 464	38 400	
Vermehrung	1 349	1 817	1 811	
1 Million Zellen geben:				
Alkohol in mg	0,869	1,143	1,302	
vergorenen Rohrzucker in mg	1,797	2,285	2,578	
1 Million Zellen liefern Säure:				
direkt titriert in ccm	0,0041	0,0047	0,0051	
fixe organische Säuren in ccm	0,0031	0,0033	0,0036	
flüchtige „ „ „ „	0,0011	0,0011	0,0014	

eine geringe Menge in den Impfkolben hinübergedrückt. Durch kräftiges Umschütteln wurde die Hefe in dem Impfkolben gleichmäßig verteilt, dieser nun direkt mit dem Kohlensäurestrom in Verbindung gesetzt und einige Kubikcentimeter zum Zwecke der Keimzählung in ein kleineres Kölbchen übergedrückt. Nachdem dann durch das Zählen der Hefezellen ein Aufschluß über die Anzahl derselben in 1 ccm erlangt war, ließ sich berechnen, eine wie große Menge Flüssigkeit in jedes Gärgefäß übergeführt werden mußte, um überall eine gleiche Aussaat von Hefezellen zu erhalten.

Ehe das Impfen vorgenommen wurde, war das Augenmerk wieder darauf gerichtet, die zu impfenden Gärlösungen schon thunlichst von aller in denselben enthaltenen Luft befreit, mit dem Kohlensäureapparat in Verbindung zu bringen. Die mit der sterilisierten Gärlösung und den steril aufgesetzten Kühlern versehenen Gärkolben wurden deshalb in mit Wasser gefüllte Bechergläser eingesetzt und das Wasser zum Kochen erhitzt. Die Gärkolben wurden sodann in

meyer-Kolben

Ellipsoideus II				Saccharomyces cerevisiae I			
4	8	14	28	4	8	14	21 Tagen
9,9	9,9	Bereits nach 8 Tagen ist aller Rohrzucker vergoren		9,9	9,9	9,58	9,9
2,104	—			4,88	2,478	0,436	0,367
1,946	—			1,159	—	—	—
5,955	9,9			4,105	7,54	9,17	9,55
60,14	100,0			41,36	76,16	95,72	97,47
7,954	9,9			8,741	9,9	9.58	9,9
80,34	100,0			88,28	100,0	100,0	100,0
± 0°	± 0°			— 4,2°	— 3,2°	— 0,6°	— 0,5°
+ 2,588°	—			+ 1,54°	—	—	—
— 2,588°	—			— 5,74°	— 3,2°	— 0,6°	— 0,5°
0,485 g	—			1,72 g	0,51 g	0,08 g	0,069 g
= 23,05%				= 35,24%	= 20,58%	= 18,34%	= 18,8 %
1,619 g	—			3,16 g	1,968 g	0,356 g	0,298 g
= 76,94%				= 64,74%	= 79,41%	= 81,65%	= 81,19%
2,922	4,93			2,02	3,8	4,78	5,02
49,06	49,8			49,26	50,39	52,12	52,29
14,2	18,6			11,0	17,6	19,2	20,0
9,4	13,2			7,4	12,4	13,6	14,2
4,2	5,8			3,4	5,2	5,6	6,0
20,0	20,0			19,0	19,0	19,0	19,0
25 720	28 320			26 000	36 664	37 600	37 400
1 286	1 416			1 368	1 929	1 978	1 967
1,136	1,740			0,776	1,128	1,271	1,342
2,315	3,495			1,575	2,056	2,438	2,553
0,0055	0,0066			0,0042	0,0048	0,0051	0,0053
0,0036	0,0046			0,0028	0,0033	0,0036	0,0037
0,0016	0,0020			0,0013	0,0014	0,0014	0,0017

das Wasserbad gesetzt, worauf bis zum Erkalten Kohlensäure steril durch die Gärflüssigkeit und die Kühler geleitet wurde.

Nachdem dies geschehen, wurde der Impfkolben auf der einen Seite mit dem Kohlensäurestrom, auf der anderen Seite mit dem Gärkolben in Verbindung gebracht, wobei noch in Betracht zu ziehen war, daß der Schlauch am Schnabel des Gärgefäßes mit einem sterilen Glasstopfen verschlossen gewesen sein mußte. Durch den leicht regulierbaren Druck ließ man nun die berechnete, eine bestimmte Anzahl Hefezellen enthaltende Flüssigkeit in der mit Einteilung versehenen Röhre des Impfkolbens aufsteigen, zog dieselbe aus der Flüssigkeit heraus und bewirkte durch weiteren Druck das Uebersteigen der gewünschten Menge Flüssigkeit in das Gärgefäß. Nach geschehener Impfung wurde der Impfkolben losgelöst und das Schlauchende am sterilen Wattefilter wieder mit dem Gärgefäß verbunden.

Die auf diese Weise in der Kohlensäure geimpften Versuchs-

Gärung in Chudiakoff-Kolben

	Ellipsoideus I			
Nach	4	8	14	28
Zuckerlösung %	9,89	9,89	9,89	9,89
Invertzucker vorhanden in g	6,840	6,016	5,272	1,888
Rohrzucker vorhanden in g	1,004	0,427	—	—
„ vergoren in g	2,29	3,75	4,88	8,10
„ „ in %	23,15	37,90	49,34	81,90
„ invertiert in g	8,886	9,463	9,89	9,89
„ „ in %	89,84	95,68	100,0	100,0
Beobachtete Drehung	— 3^0	— $4,2^0$	— $4,3^0$	— $3,1^0$
Drehung des vorhandenen Rohrzuckers	+ $1,33^0$	+ $0,56^0$	—	—
„ „ „ Invertzuckers	— $4,33^0$	— $4,76^0$	— $4,3^0$	— $3,1^0$
Dextrose vorhanden	2,949 g = 43,11 %	2,277 g = 37,84 %	1,949 g = 36,96 %	0,173 g = 9,16 %
Lävulose „	3,891 g = 56,88 %	3,739 g = 62,14 %	3,323 g = 63,03 %	1,715 g = 90,83 %
Alkohol „ in g	1,01	1,79	2,46	3,99
„ „ in % des vergorenen Rohrzuckers	44,10	47,73	50,41	49,25
Säuren:				
direkt titriert in ccm	6,2	9,0	12,8	14,4
fixe organische Säuren in ccm	4,6	6,0	8,8	9,6
flüchtige „ „ „ „	2,0	2,4	3,6	4,8
Aussaat in cbmm:				
Zellen vor der Gärung	19,8	19,8	19,8	19,8
„ nach „ „	14 464	17 928	25 728	29 328
Vermehrung	730	905	1 298	1 481
1 Million Zellen geben:				
Alkohol in mg	0,698	0,998	0,956	1,36
vergorenen Zucker in mg	1,583	2,091	1,896	2,761
1 Million Zellen liefern Säure:				
direkt titriert in ccm	0,0042	0,0050	0,0049	0,0049
fixe organische Säuren in ccm	0,0031	0,0033	0,0034	0,0032
flüchtige „ „ „ „	0,0013	0,0013	0,0014	0,0016

reihen wurden nun in Kohlensäure vergären lassen, indem ein langsamer Strom der Kohlensäure durchgeleitet wurde.

Die in Anwendung gebrachte Kohlensäure war, in Bomben verdichtet, von Dr. Raydt in München bezogen. Auf der Bombe war ein Reduzierventil angebracht, mit Hilfe dessen der Gasstrom reguliert und unter stets gleichem Druck gehalten werden konnte.

Obschon die Kohlensäure annehmbarerweise rein war, so sollte doch durch das Hindurchleiten derselben durch eine Kombination von Waschflaschen eine absolute Reinheit erzielt werden. Es wurde deswegen an den an das Ventil befestigten Schlauch zunächst eine Flasche angefügt mit einer Mischung von Kaliumdichromat und Schwefelsäure zur Oxydation von etwa beigefügten organischen Substanzen. Dieser reihte sich eine Flasche mit einer 20-proz. Bleinitratlösung zum Zurückhalten von etwaigem Schwefelwasserstoff an. Dieser folgte eine mit Kohle gefüllte Flasche. Zur Aufnahme des etwa beigemengten Sauerstoffs diente eine Flasche mit Kupferdreh-

im Kohlensäurestrom.

Ellipsoideus II				Saccharomyces cerevisiae I			
4	8	14	28	4	8	14	28 Tagen
9,89	9,89	9,89	9,89	9,34	9,34	9,34	9,34
4,86	3,644	2,45	—	7,152	5,096	4,644	3,96
2,784	1,210	—	—	0,188	—	—	—
2,489	5,22	7,56	9,89	2,32	4,5	4,93	5,58
25,16	52,78	75,96	100,0	24,83	48,17	52,78	59,74
7,106	8,68	9,89	9,89	9,152	9,34	9,34	9,34
73,39	87,92	100,0	100,0	97,97	100,0	100,0	100,0
+ 0,64°	— 0,75°	— 3,5°	± 0°	— 3,66°	— 4°	— 3,33°	— 3,66°
+ 3,8°	+ 1,6°	—	—	+ 0,25°	—	—	—
— 3,16°	— 2,35°	— 3,5°	—	— 3,91°	— 4°	— 3,33°	— 3,66°
2,102 g	1,557 g	0,401 g	—	3,292 g	0,936 g	1,871 g	1,319 g
= 43,25%	= 42,72%	= 16,36%		= 46,02%	= 18,38%	= 40,28%	= 33,3 %
2,758 g	2,087 g	2,049 g	—	3,86 g	4,16 g	2,773 g	2,641 g
= 56,74%	= 57,27%	= 83,63 %		= 53,97 %	= 81,63%	= 59,71%	= 66,69%
1,01	2,485	3,693	5,09	1,16	2,28	2,47	2,83
40,57	47,50	48,84	51,56	50,0	50,66	50,1	50,53
9,6	12,8	19,2	20,8	13,6	15,2	16,8	17,6
6,6	9,2	12,6	14,4	7,6	8,8	9,6	10,8
2,4	3,6	5,6	6,0	4,6	5,6	6,4	6,8
19,4	19,4	19,4	19,4	19,6	19,6	19,6	19,6
16 928	19 264	21 128	21 928	15 800	17 264	16 400	18 668
872	992	1 089	1 130	806	880	836	952
0,596	1,289	1,747	2,553	0,734	1,320	1,506	1,516
1,470	2,709	3,578	4,505	1,468	2,606	3,006	3,149
0,0056	0,0066	0,0090	0,0094	0,0086	0,0088	0,0102	0,0094
0,0038	0,0047	0,0059	0,0065	0,0049	0,0050	0,0058	0,0057
0,0014	0,0018	0,0026	0,0027	0,0029	0,0032	0,0039	0,0036

spänen, die mit Salzsäure befeuchtet waren, und endlich sollte eine Flasche mit destilliertem Wasser etwa mitgerissene Salzsäuredämpfe aufnehmen. An die letzte Waschflasche reihte sich eine Gabel an, von deren einzelnen Zinken der Kohlensäurestrom in die Gärgefäße übergeführt wurde. Zwischen den Zinken und den Gärgefäßen befand sich je ein steriles Wattefilter.

Nachdem ich so den bei den Versuchen angewandten Apparat beschrieben habe, lasse ich nunmehr die gefundenen Resultate folgen, welche ich in Tabellenform übersichtlich zusammengestellt habe.

Die Beschreibung des Apparates entnahm ich zum Teil der oben erwähnten Arbeit von Gustav Korff: „Der Einfluß des Sauerstoffs auf die Gärung", bei welcher derselbe Apparat in Anwendung kam; die Beschreibung der Ausführung der Analysen der schon oben erwähnten Heß'schen Arbeit.

(Schluß folgt.)

Nachdruck verboten.

Studien über die Enzyme im Käse[1].

Von **Orla Jensen**,
I. Assistenten des bakteriologischen Laboratoriums der schweizerischen landwirtschaftlichen Versuchs- und Untersuchungsanstalten in Bern.

Die neueren Forschungen auf dem Gebiete der Gärungsphysiologie haben es wahrscheinlich gemacht, daß die Mikroorganismen chemische Veränderungen in den Nährboden nur vermittels Enzymen hervorzurufen imstande sind. Nahe liegend ist deshalb die Annahme, daß die Umbildung des Caseïns (d. h. nach Auffassung Hammarsten's des Paracaseïns) während der Käsereifung von Enzymen verursacht werde, eine Ansicht, die Duclaux schon in seinen ersten Arbeiten über die Käsereifung vertreten hat, für welche aber bis jetzt noch nie ein Beweis erbracht worden ist. Dieses zu beweisen bietet jedoch keine großen Schwierigkeiten, indem jeder Käse, in Wasser zu einer feinen Emulsion verrieben, unter Zusatz von 1 ‰ Formalin eine deutliche Selbstverdauungsfähigkeit zeigt, welche nur von Enzymen der Käsemasse herrühren kann, indem die Wirksamkeit der Mikroorganismen durch das Formalin gehemmt wird. Diese Erscheinung ist zuerst von Herrn Krarup, Assistenten der landwirtschaftlichen Versuchsstation in Kopenhagen, an einem dänischen Vollmilchkäse beobachtet worden, und ich habe sie später an anderen Käsesorten weiter verfolgt und sie immer bestätigen können. Die nachfolgende Tabelle I giebt z. B. die Menge des löslichen Stickstoffes (d. h. des Stickstoffes der im Wasser löslichen stickstoffhaltigen Substanzen), in Prozenten des Gesamtstickstoffes berechnet, verschiedener Emmenthalerkäse nach verschiedener Extraktionsdauer, sowohl bei Zimmertemperatur als auch bei 35° C, an. Die Käse waren vorher getrocknet, entfettet und zu einem staubfreien Pulver zerrieben worden, so daß jedes Teilchen schnell vom Formalin durchdrungen werden konnte. Die mit 4, 5 und 6 bezeichneten Käse waren zur Zeit der Untersuchung 2 Monate, der mit 3 bezeichnete Käse 4 Monate alt[2]). Käse 8 und 9 sind vollreife Käse.

Tabelle I.

	Zimmertemperatur			35° C					
1 ‰ Formalin	6	3	8	4	5	6	3	8	9
Nach 15 Stunden[3])	20,26	22,05	34,87	19,79	16,92	21,66	19,93	33,17	33,24
Nach 3 Tagen				24,87	21,63	25,02	24,36	38,13	34,65
„ 6 „	23,08	26,27	35,55		27,76		25,25		36,63
„ 15 „		31,34	38,00				29,77	38,11	38,43

1) Vergl. auch Landw. Jahrbuch der Schweiz. Bd. XIV. 1900.

2) Vollständige Analysen dieser Käse findet man in der Arbeit von v. Freudenreich und mir über „die Bedeutung der Milchsäurefermente für die Bildung von Eiweißzersetzungsprodukten in Emmenthalerkäsen". (Diese Zeitschrift. Bd. VI. p. 12.)

3) 15 Stunden ist die von Bondzynski vorgeschlagene Extraktionszeit für Käse.

Man sieht, daß die Vermehrung des löslichen Stickstoffes bei 35° C gewöhnlich schneller als bei Zimmertemperatur vor sich geht. Ohne weiteres darf man jedoch nicht behaupten, daß obenerwähnte Vermehrung des löslichen Stickstoffes von Enzymen verursacht wird. Bedenkt man nämlich, daß öfters 3—4 Wochen erforderlich sind, um einen Käse, besonders einen fettarmen, mit Aether vollständig zu extrahieren, so wäre es an und für sich nicht unmöglich, daß es auch lange dauern könnte, bis ein Käse, besonders ein solcher, welcher wenig lösliche Substanzen enthält, mit Wasser vollständig extrahiert würde. Die Zunahme des löslichen Stickstoffes wäre dann in diesem Falle nur einem vollständigeren Ausziehen schwerlöslicher stickstoffhaltiger Substanzen zuzuschreiben.

Zu Gunsten der Annahme, daß die Vermehrung des löslichen Stickstoffes eine Enzymwirkung ist, spricht der Umstand, daß in einer auf 95° erwärmten Käsemasse keine Vermehrung des löslichen Stickstoffes stattfindet; die Menge des letzteren bleibt in diesem Falle überhaupt etwas kleiner als nach 15 Stunden in der nicht erwärmten Käsemasse, weil ein Teil der löslichen Eiweißstoffe beim Erwärmen koaguliert wird. Wäre die Vermehrung des löslichen Stickstoffes in nicht erwärmter Käsemasse auf eine bloße Extraktion zurückzuführen, so müßten daher die langsam extrahierbaren Stoffe alle bei Erwärmung coagulierbar sein. Die Zunahme des löslichen Stickstoffes, die bei 35° stattfindet, rührt jedoch nicht bloß von koagulierbaren Substanzen her, da die Hauptmenge dieser letzteren mit der Zeit schon bei dieser Temperatur ausgefällt wird; so enthält ein Emmenthalerkäseextrakt, welcher 6 Tage bei 35° C gestanden hat, öfters gar keine bei Erwärmung koagulierbaren Substanzen mehr. Die Zunahme des löslichen Stickstoffes eines Käseextraktes bei 35° C muß deshalb jedenfalls zum Teil als eine Enzymwirkung aufgefaßt werden, und es ist auch nicht anzunehmen, daß es bei einer niedrigeren Temperatur sich anders verhalten sollte, da wie die Tabelle zeigt, bei 35° die Zunahme des löslichen Stickstoffes gewöhnlich nicht geringer ist als bei Zimmertemperatur.

Die im Käse vorkommenden Enzyme können, was von vornherein als das Natürlichste erscheinen dürfte, von den im Käse sich entwickelnden Mikroorganismen herrühren, aber sie können auch, wie es die interessanten Arbeiten von Babcock und Russell[1]) über die Galaktase wahrscheinlich machen, aus der Milch stammen; es wäre ferner aber noch möglich, daß sie zum Teil aus dem beim Verkäsen verwendeten Lab herrühren, indem die gewöhnlichen Labpräparate nie vollständig von Pepsin befreit sind.

Der vorliegenden Arbeit liegt die Absicht zu Grunde, den Ursprung und die Eigenschaften der im Käse vorkommenden Enzyme näher zu erforschen, und ich habe, um dieses Ziel zu erreichen, sowohl frische Käsemasse als auch Käse in verschiedenen Reifungsstadien auf Enzyme untersucht. Als Repräsentanten der Weichkäse- und Hartkäsesorten habe ich Backsteinkäse und Emmenthalerkäse

1) 14., 15 and 16. Reports of the agricultural experiment station of the university of Wisconsin. 1897—1899.

gewählt, weil diese zwei Käsesorten in chemischer Hinsicht den größten Kontrast bieten. Um die Enzyme in der Käsemasse nachzuweisen, wurde immer die schon erwähnte Selbstverdauungsmethode verwendet, ebenso wie Babcock und Russell es für die Enzyme der Milch gethan haben. Als Antiseptikum wurde meistens Formalin benützt, weil schon 1 $^0/_{00}$ desselben genügt, um die Bakterienentwickelung zu verhindern, diese geringe Menge daher keinen Einfluß auf die Analyse ausübt. Nur in solchen Fällen, in welchen man speziell nach Galaktase suchen wollte, wurde Aether, 15—25-proz., je nachdem die Käsemasse mager oder fett war, benützt, weil die Galaktase dem Formalin gegenüber sehr empfindlich ist. Der Aether wurde dann vor der Analyse mittels eines durchgesaugten Luftstromes entfernt.

Um sicher zu sein, daß die Käsemasse schnell vom verwendeten Antiseptikum durchdrungen wird, ist es von größter Bedeutung, sie in einen feinverteilten Zustand zu bringen, was erreicht wird, indem man die abgewogene Durchschnittsprobe der Käsemasse mit Wasser in einer Reibschale zu einer milchigen Flüssigkeit zerreibt. Diese gießt man in den zu dem Versuche dienenden Kolben mittels eines Trichters hinein und spült mit Wasser von einer etwas höheren Temperatur als der Schmelzpunkt des Käsefettes nach (45—50° C). Auf diese Weise befreit man leicht die Reibschale und den Trichter von den letzten anhaftenden Käseresten. Am feinsten kann man die Käsemasse zerkleinern, wenn man sie vorher trocknet und entfettet. Diese Prozedur ist jedoch nicht ohne Gefahr für unser Studium, indem beim Trocknen sich enzymbildende Bakterien entwickeln können, und beim Entfetten die Enzyme immer etwas abgeschwächt werden. Der nachteilige Einfluß des Trocknens ist am größten bei einer ganz frischen Käsemasse. In Käsen, welche schon einige Monate alt sind, gehen die Umbildungen so langsam vor sich, daß man im Laufe weniger Tage keinen Unterschied in dem Reifungsgrade oder der Enzymwirkung nachweisen kann. Zerreibt man ein Stück Emmenthalerkäse und bewahrt die zerriebene Masse bei Zimmertemperatur in einem verschlossenen Glase auf, so nimmt die Menge der darin enthaltenen Bakterien rasch ab, und chemische Veränderungen treten nicht ein, bevor die von der Luft hereingelangten Schimmelpilze sich zu entwickeln anfangen. Bei meinen Versuchen wurde die Käsemasse unter Schwefelsäure in großen Vacuum-Exsiccatoren getrocknet. Breitet man hier die zerkleinerte Käsemasse in dünner Schicht auf Filtrierpapier aus, wechselt für jede neue Portion die Schwefelsäure und sorgt dafür, daß die Exiccatoren das Vacuum 12 Stunden lang halten, so gelingt es in dieser Zeit, bei Zimmertemperatur die Käsemasse scheinbar ebenso trocken zu machen, wie einen frisch gebackenen Zwieback. Auf diese Weise bringt das Trocknen selbst für die ganz frische Käsemasse keine Nachteile mit sich.

Für die Untersuchungen wurden entweder 10 g der nicht entfetteten Käsmasse, nachdem sie auf die schon erwähnte Weise mit Wasser zerrieben war, oder etwa 5 g des entfetteten Käsepulvers in einem 250 ccm-Kolben gebracht. Wenn Formalin als Antiseptikum verwendet wurde, konnte man gleich bis auf die Marke mit Wasser

auffüllen und mit einem in Formalin eingetauchten Gummistöpsel verschließen. Wurde dagegen Aether als Antiseptikum verwendet, so konnte natürlicherweise die endliche Auffüllung mit Wasser erst geschehen, nachdem der Aether wieder entfernt war. Die Aetherkolben wurden mit Korkstöpseln verschlossen und mit Paraffin luftdicht gemacht. Die verschiedenen Kolben wurden alle Tage durchgeschüttelt, und nach einem kürzeren oder längeren Stehen bei Zimmertemperatur oder bei 35° C wurde die darin vorhandene Menge löslichen Stickstoffes [L N] ermittelt. Gewöhnlich wurde auch der Stickstoff der ammoniakfreien Eiweißzersetzungsprodukte, d. h. der Stickstoff der mit Phosphorwolframsäure nicht fällbaren stickstoffhaltigen Substanzen, bestimmt. Dieser wird der Kürze halber im Nachfolgenden nur „Stickstoff der Zersetzungsprodukte" genannt oder mit Z N bezeichnet. Seltener dagegen wurde der Stickstoff der Ammoniaksalze [A N] durch Destillation mit $BaCO_3$ ermittelt. Diese drei verschiedenen Stickstoffmengen L N, Z N und A N sind immer in Prozenten des Gesamtstickstoffes ausgedrückt.

Bei vielen Analysen ist ferner die Acidität der Käse bestimmt worden. Diese ist dann durch die Anzahl der ccm $^1/_{10}$ Normallauge, welche mit Phenolphtaleïn als Indikator zur Neutralisation des aus 10 g Käse bereiteten Extraktes nötig sind, ausgedrückt, oder, was auf dasselbe herauskommt, durch die Anzahl ccm Normallauge, welche dem aus 100 g Käse hergestellten Extrakte entsprechen.

Für jede nach verschiedener Zeit untersuchte Selbstverdauung desselben Käses wurde natürlicherweise immer ein neuer Kolben in Anspruch genommen.

I. Die Enzyme der frischen Käsemasse.

Babcock und Russell nehmen an, daß es hauptsächlich Galaktase sei, welche den Abbau des Caseïns während der Reifung der Hartkäse verursache. Sie stützen diese Hypothese auf die Thatsache, daß ein Käse, welcher ein Jahr lang in Chloroform eingetaucht gewesen war und sich nach dieser Zeit steril zeigte, ganz normal gereift war. Diesem Versuch kann man jedoch keinen absoluten Wert beilegen, solange man nicht weiß, wie lange es gedauert hat, bis dieser Käse von dem in Wasser fast unlöslichen Chloroform durchdrungen wurde, wie viele Bakterien sich in dieser Zeit entwickelt hatten, und wie viele Enzyme diese Bakterien produziert hatten. Nach einem Jahre haben alle Käse schon längst ihre Gärungen durchgemacht, und selbst wenn sie nach dieser Zeit ganz steril wären, hätte dieses keine praktische Bedeutung. Dieser Versuch von Babcock und Russell gewinnt dagegen ein großes Interesse dadurch, daß er zeigt, daß ein Hartkäse unter anaëroben Bedingungen mit einer sterilen Oberfläche gut reifen kann.

Um festzustellen, ob die Galaktase eine Rolle bei der Reifung eines Käses spielen kann, muß man folgende drei Punkte untersuchen:

1) Ob die Galaktase der Milch überhaupt in solchen Mengen in die frische Käsemasse übergeht, daß sie darin merkbare Umbildungen des Caseïns hervorrufen kann;

2) wie lange die Galaktase im betreffenden Käse sich erhält;
3) ob die natürlichen Verhältnisse im betreffenden Käse solche sind, daß die Galaktase wirken kann.

Im vorliegenden Abschnitte werde ich es versuchen, die erste und dritte dieser Fragen zu beantworten und zugleich feststellen, ob das Pepsin des Labes möglicherweise eine Rolle bei der Käsereifung spielen könnte.

Was die zweite Frage betrifft, so werde ich diese erst in den späteren speziellen Studien über Enzyme im Käse erschöpfend behandeln. Freilich hat man in der Storch'schen Reaktion[1]) ein Mittel, um die geringsten Spuren des von Babcock[2]) entdeckten Milchfibrins nachzuweisen, aber ich trage einige Bedenken, meine Arbeit auf die Annahme zu stützen, daß das Milchfibrin identisch mit dem später von Babcock und Russell gefundenen proteolytischen Enzym, der Galaktase, sei. Da in der Natur die Enzyme fast immer zu mehreren vereint vorkommen und sich oft nur sehr schwer trennen lassen, so halte ich es vorläufig für wahrscheinlicher, daß zwei so verschiedene Fähigkeiten wie diejenige, Sauerstoff aus Wasserstoffhyperoxyd abspalten und anderseits Caseïn in eine lösliche Form überführen zu können, auch zwei verschiedenen Enzymen gehören und nicht nur einem, wie Babcock und Russell zu meinen scheinen[3]). Da Letzteres indessen nicht möglich ist, habe ich der Vollständigkeit halber untersucht, wie lange das Milchfibrin sich im Käse halten kann, und mittels der Storch'schen Reaktion gefunden, daß es weder in Backsteinkäsen, noch in Emmenthalerkäsen vollständig verschwindet. Doch muß man annehmen, daß es in den älteren Käsen in einer sehr abgeschwächten Form vorhanden ist, indem es in Milch nach den Untersuchungen von Babcock schon nach 4 Tagen äußerst schwach wird[4]). Im Folgenden werden wir uns nicht mehr mit dem Milchfibrin beschäftigen, sondern nur noch mit der Galaktase, dem proteolytischen Enzym der Milch. Um dieses Enzym von anderen proteolytischen Enzymen zu unterscheiden, benützen wir besonders seine außergewöhnlich große Empfindlichkeit Formalin gegenüber. In einer kürzlich erschienenen Arbeit meines Chefs, Herrn Dr. v. Freudenreich „Ueber das in der Milch vorhandene unorganisierte Ferment, die sogenannte

1) 40. Beretning fra den kgl. Veterinär- und Landbohöjskoles Laboratorium for landökonomiske Forsög. 1898.

2) Bulletin No. 18. Agricultural experiment station of the university of Wisconsin. 1889.

3) Daß im allgemeinen die Eigenschaften der Enzyme, organische Stoffe hydrolytisch zu spalten und Wasserstoffhyperoxyd zu zerlegen, voneinander trennbar sind, hat John Jacobson in seiner Inaug.-Diss., Berlin 1891, „Ueber ungeformte Fermente“ bewiesen.

4) Nach den Versuchen von Storch ist das Milchfibrin sehr empfindlich gegenüber der gleichzeitigen Einwirkung von Wärme und Säure, deshalb ist es auch, wie ich gefunden habe, in gewöhnlicher Milch bei Bruttemperatur schon nach 5 Tagen verschwunden. In Milch bei Zimmertemperatur gehalten scheint das Milchfibrin dagegen wie im Käse nie ganz zu verschwinden. Läßt man frische Käsemasse verfaulen, was gewöhnlich geschieht, wenn man sie in einem verschlossenen Glase bei Zimmertemperatur aufbewahrt, so verschwindet das Milchfibrin nach ein paar Wochen.

Galaktase"[1]) sind mehrere Versuche, welche diese Empfindlichkeit zeigen, angeführt. Die zwei nachfolgenden Tabellen liefern einige neue Beispiele.

Tabelle II.

Magermilch 1	Zimmertemperat.	35 ° C
	LN	LN
Sogleich	9,36	9,36
Nach 14 Tagen mit 1 ‰ Formalin	11,23	12,30
Nach 14 Tagen mit 15 % Aether	23,26	45,45

Tabelle III.

Magermilch 2	Zimmertemperat.		35 ° C		
	LN	ZN	LN	ZN	AN
Sogleich	8,82	4,03	8,82	4,03	0,00
Nach 6 Wochen mit 1 ‰ Formalin			21,66	5,54	
Nach 6 Wochen mit 15 % Aether	35,71	5,82	70,90	8,47	0,39

Diese Tabellen zeigen, daß die Galaktase mit Aether bei 35 ° C mehr als doppelt so schnell wirkt als bei Zimmertemperatur, daß sie dagegen mit Formalin nicht viel schneller bei ersterer Temperatur wirkt als bei letzterer, wahrscheinlich weil das Formalin wie alle eigentlichen Antiseptika einen viel störenderen Einfluß bei höherer als bei niedrigerer Temperatur ausübt. Aus diesem Grunde wird bei 35 ° C der Unterschied zwischen Formalin und Aether in ihrer Wirkung auf die von der Galaktase hervorgebrachte Auflösung des Caseïns so deutlich, daß er als Indicator für die Gegenwart von Galaktase benützt werden kann. Trypsin und besonders Pepsin zeigen nämlich wie v. Freudenreich in der oben citierten Arbeit nachgewiesen hat, keine so große Empfindlichkeit Formalin gegenüber, und, wie wir später sehen werden, scheinen die im Käse vorkommenden Bakterienenzyme sich gleich zu verhalten. Im folgenden werde ich diese Nachweismethode einfach die Formalin-Aether-Probe nennen.

Nachfolgende Versuche mit einer aus Magermilch hergestellten, nicht über 35 ° C erwärmten Käsemasse (1) zeigen, daß diese genug Galaktase enthält, um auf ähnliche Weise wie die Milch verändert zu werden.

Tabelle IV.

Käsemasse 1	Mit 2 ‰ Milchsäure		Ohne Säurezusatz		
35° C	LN	ZN	LN	ZN	AN
Nach 15 Stunden mit 1 ‰ Formalin	5,97	0,68	5,02	0,68	0,00
Nach 14 Tagen mit 1 ‰ Formalin	20,22	1,41	12,08	1,63	
Nach 14 Tagen mit 15 % Aether			42,07	2,58	0,25

1) Diese Zeitschrift. Bd. VI. p. 332.

(Fortsetzung folgt.)

Beitrag zur Kenntnis des „fadenziehenden Brotes".

Von Dr. J. Thomann,

Assistenten am kantonalen chemischen Laboratorium in Bern.

In den neuesten Arbeiten „über fadenziehendes Brot" ist stets ein Kartoffelbacillus als Erreger dieser Brotkrankheit gefunden worden.

Vogel[1]) beschreibt drei verschiedene, zur Gruppe der Kartoffelbacillen gehörige Arten, die er aus 16 fadenziehenden Broten isolieren konnte. Zwei waren weißgraue Arten, die dritte eine rote Varietät. Durch Backversuche zeigte sich, daß nur die beiden weißen durch ihren Lebensprozeß eine charakteristische Veränderung der Brotsubstanz bewirkten, während die rote Art am Zustandekommen des Fadenziehens nicht beteiligt war. Vogel bezeichnete die ersteren beiden mit Bacillus mesentericus panis viscosi I und Bacillus mesentericus panis viscosi II. Dieselben erteilten bei Impfung auf normales Brot nach kurzer Zeit demselben fadenziehende Beschaffenheit, die rote Varietät war der gewöhnliche Bacillus mesentericus ruber. Es gelang Vogel aber nicht, die Erreger des Fadenziehens beim Brot auch aus verdächtigem Mehl oder Hefe- und Sauerteigproben zu isolieren und damit über die Herkunft derselben bestimmte Angaben machen zu können.

Juckenack[2]) nennt als Erreger der fraglichen Brotkrankheit den Bacillus mesentericus fuscus Flügge, den er auch aus verschiedenen Roggenmehlen züchten konnte; aus seinen Untersuchungen geht hervor, daß in normalem Roggenmehl Kartoffelbacillen, welche die fragliche Krankheit erzeugen, vorkommen, jedoch sind dieselben in der Regel nicht imstande, bei geeigneter Aufbewahrung des Mehles und unter normalem, reinlichem Verarbeiten desselben zu Brot sich derartig zu vermehren, daß das fertige Brot von der Krankheit in ausgesprochenem Maße befallen wird. Es können sich aber bei feuchter und dumpfiger Lagerung des Mehles die ursprünglich nur in geringer Anzahl in demselben vorhandenen Kartoffelbacillen derart vermehren, daß in dem mit dem betreffenden Mehl gebackenen Brot schon nach etwa einem Tage der typische Charakter der Brotkrankheit augenscheinlich wahrnehmbar ist. Ferner spielt auch die Temperatur, bei welcher die fertigen Brote aufbewahrt werden, eine Rolle, indem die Erreger des Fadenziehens nach Angaben Vogel's nur bei über 23° C liegenden Temperaturen üppig gedeihen. Die Krankheit zeigt sich auch vorwiegend im Sommer.

Anfangs August dieses Jahres wurden mir verschiedene Brote, die aus zwei hiesigen Bäckereien stammten und deutlich fadenziehend waren, zur bakteriologischen Untersuchung übergeben, zugleich auch einige Sorten Mehl und Hefe, die zur Herstellung des betreffenden

1) Zeitschr. f. Hyg. etc. Bd. XXVI. 1897.
2) Zeitschr. f. Unters. d. Nahrungs- u. Genußmittel. 1899. Heft 10.

Brotes gedient hatten. Die kulturellen Untersuchungen wurden so in Angriff genommen, daß aus einer vorher unverletzten Stelle des Brotes von der fadenziehenden Masse mit steriler Pincette entnommen und mit steriler Bouillon zu einem gleichmäßigen Brei verrieben wurde, der dann zur Herstellung von Agarplatten diente. Mehl und Hefe wurden ebenfalls in steriler Bouillon aufgeschwemmt und mit diesen Aufschwemmungen Agarplatten angelegt und letztere bei 37° aufbewahrt. Auf diese Weise gelang es mit Leichtigkeit, aus der fadenziehenden Brotkrume einen Mesentericus-ähnlichen Bacillus herauszuzüchten, der, auf Brot verimpft, dasselbe deutlich fadenziehend machte, daneben wurde auch der rote Kartoffelbacillus gefunden, von dem ich, übereinstimmend mit Vogel, beobachtete, daß er nicht imstande ist, dem Brot die fadenziehende Beschaffenheit zu erteilen. Andere Bakterienarten wurden im Brot nicht gefunden.

Die bakteriologische Untersuchung der Hefe ergab hauptsächlich Hefezellen und Schimmelpilze, in keiner Weise Bakterien, die im entferntesten an Mesentericus erinnert hätten.

Ein anderes Resultat lieferte die Analyse der 3 eingesandten Mehle. Zwei Sorten, beide Gemische von Weizen- und Roggenmehl, enthielten unzweifelhaft und in ziemlich großer Menge die gleichen beiden Mesentericus-Arten, welche auch im Brot gefunden wurden; es gelang immer gut mit der weißen Abart, normales Brot fadenziehend zu machen. In einem dritten Mehl, einem reinen Weizenmehl, gelang es selbst bei wiederholter Untersuchung nicht, Mesentericus auch nur vereinzelt aufzufinden. Die aus dem Brot und den zwei Mehlen gezüchtete Art war nicht Bac. mesentericus fuscus, den Juckenack bei seinen Untersuchungen fand, sondern sie dürfte eher identisch mit dem von Vogel beschriebenen Bacillus mesentericus panis viscosi II bezeichnet werden. Das morphologische und kulturelle Verhalten dieses letzteren und des von mir aus Brot und Mehl isolierten Bacillus lasse ich in nachstehender Tabelle (p. 742) folgen.

Daß in unserem Falle der das „Fadenziehend“werden des Brotes verursachende Bacillus durch das Mehl in das Brot gekommen ist, dürfte wohl außer Zweifel sein. Ich versuchte nun, in dem Roggenmehl den Erreger dieser Krankheit quantitativ zu bestimmen. Zu diesem Zweck verfuhr ich folgendermaßen: Von dem Mehl wurden mit einem ausgeglühten Platinlöffel von 0,25 ccm Inhalt Proben entnommen und in je 5 ccm steriler Bouillon aufgeschwemmt. Von dieser Aufschwemmung entnahm ich mit steriler Pipette Bruchteile eines Kubikcentimeters und legte damit eine Reihe von Gelatineplatten an. Schon nach 2 Tagen zeigte sich reichliches Wachstum auf denselben, so daß zur quantitativen Bestimmung nur solche Platten verwendet werden konnten, die mit 1 oder höchstens 2 Tropfen der Bouillon angefertigt worden waren.

Die Resultate, die ich dabei erhielt, waren folgende:

Mehl 1. Platten mit $^1/_{20}$ ccm Bouillonaufschwemmungen enthielten durchschnittlich 40 Keime, von denen etwa 2 sich, auf verschiedene Nahrböden gebracht, als Mesentericus erwiesen und imstande waren, normales Brot fadenziehend zu machen. Da nun

	Bacillus panis viscosi (Vogel)	Bacillus, von mir aus Brot und 2 Sorten Mehl isoliert
Form und Größe	4—7 µ lange, schlanke, kettenbildende Stäbchen	Ziemlich lange, schlanke, oft zu Fäden vereinigte Stäbchen
Beweglichkeit	lebhaft beweglich	lebhaft beweglich
Sporen	ovale, hellglänzende Gebilde	oval glänzend
Färbbarkeit	leicht färbbar mit gewöhnlichen Farbstoffen und auch nach Gram	leicht färbbar mit gewöhnlichen Farbstoffen und nach Gram
Gelatineplatten	70-fache Vergr., flache Verflüssigungsdelle, Kolonie mit grob granuliertem, gelbbraunem Kern und zarten Ausläufern in die Gelatine hinein	schalenförmige Verflüssigung, grobkörniger, gelbl. Kern, vom Rande der Kolonie gehen zarte Ausläufer in die Gelatine
Gelatinestich	energische, strumpfförmige Verflüssigung	rasche, sackförmige Verflüssigung
Agarplatte	Kolonieen zeigen dunklen, unregelmäßigen Kern und zarte, verästelte Ausläufer vom Rande aus	rundliche graue Kolonieen, nach der Mitte zu undurchsichtig, an der Peripherie durchscheinend und mit längeren, gewundenen Härchen besetzt
Agarstrich	trockener, grauweißer Rasen	grauweißer, runzeliger Belag, Häutchen auf dem Kondenswasser
Kartoffeln	anfänglich schleimig-grauer Belag, der nach 24 Stunden in eine grauweiße, faltige, über die ganze Kartoffel ausgebreitete Auflagerung übergeht	grauweiße, faltige, über die ganze Oberfläche sich ausbreitende Haut
Traubenzuckerbouillon	Wachstum ohne Gasbildung	Gasbildung nicht beobachtet
Peptonbouillon	schon nach 24 Stunden starkes, zähes Deckhäutchen mit darunter stehender, klarer Flüssigkeit	derbes Häutchen auf der Oberfläche, Bouillon nur ganz schwach getrübt
Wachstumsoptimum	40—42 °	wächst rascher bei Brut- als bei Zimmertemperatur

$^1/_{20}$ ccm der Bouillonaufschwemmung 0,0025 ccm Mehl entspricht, so beträgt die Anzahl der in 1 ccm Mehl vorkommenden Mesentericus-Keime ca. 800, die gesamte Keimzahl dieses Mehles aber 16000 pro Kubikcentimeter (die Schimmelpilze nicht mit eingerechnet). Die in oben angeführtem Platinlöffel abgemessene Menge Mehl wog genau 0,1400 g, in einer solchen Quantität fanden sich also nach unserer Untersuchung und Berechnung: ca. 16000 Keime, wovon ca. 800 zur oben beschriebenen, das Brot fadenziehend machenden Mesentericus-Art gehörten. Von den sonst noch in diesem Mehl angetroffenen Bakterienarten mögen erwähnt sein: Bacillus fluorescens liquefaciens, zwei verschiedene Diplokokkenspecies und zahlreiche gelbe, nicht verflüssigende Kolonieen eines Bacillus, dessen Identifizierung mir nicht möglich war.

In Mehl 2, das, wie schon erwähnt, ebenfalls ziemlich stark mit

Mesentericus infiziert war, mußte leider aus verschiedenen Gründen eine quantitative Bestimmung unterlassen werden.

In dem dritten Mehl, einem feinen Weizenmehl, daß mir gleichzeitig zur Untersuchung gesandt wurde, fand ich pro Kubikcentimeter ca. 20000 Keime, doch war es mir, wie schon anfangs bemerkt, nicht möglich, weder durch das Gelatineplattenverfahren noch durch Anlegen von Agarplatten einen Mesentericus-ähnlichen Mikroorganismus zu finden, wahrscheinlich war wohl diese Sorte Mehl mit schuld an der fadenziehenden Beschaffenheit des Brotes. Juckenack erwähnt in seiner Arbeit über diesen Gegenstand, daß zum Auftreten der typischen Krankheit erforderlich sei, daß im Mehl eine sehr große Anzahl des Bacillus mesentericus vorkomme. Dies darf wohl für unseren Fall angenommen werden und durch die qualitative Untersuchung des Mehles 1 erwiesen sein. Als günstigen Faktor für das Zustandekommen des fadenziehenden Brotes möchte ich auch mit Vogel und Juckenack die Temperatur bezeichnen, bei der das fertige Brot aufbewahrt wird. Dieser Faktor spielte offenbar auch in unserem Falle eine Rolle, da anfangs August die Temperaturverhältnisse derartige waren, daß auch im Schatten immer Temperaturen von über 23° herrschten.

Referate.

Van Rijn, J. J. L., Die Glykoside. Chemische Monographie der Pflanzenglykoside nebst systematischer Darstellung der künstlichen Glykoside. XVI u. 511 p. Berlin (Gebr. Borntraeger) 1900.

Infolge der bekannten ausgezeichneten Forschungen E. Fischer's ist das Studium der Glykoside in den letzten Jahren in ganz neue Bahnen gelenkt und hat der Begriff der Glykoside einen tieferen und mehr wissenschaftlichen Inhalt erhalten. Eine Monographie der Glykoside, sowohl der künstlichen wie der natürlichen, wie das vorliegende Werk, erscheint daher zu rechter Zeit, und bei der großen Bedeutung der Glykoside und ihrer Spaltungen in der Gärungsphysiologie ist eine kurze Besprechung des in erster Linie allerdings für den Phytochemiker bestimmten van Rijn'schen Buches in diesen Blättern wohl am Platze.

Einer Einleitung, in welcher der allgemeinere Begriff der Glykoside, ihre Spaltung durch Enzyme und Säuren, die Prinzipien der Darstellungsmethoden behandelt werden, folgt der erste Teil, der über die künstlichen Glykoside (Darstellung, allgemeine Eigenschaften, Konstitution, Systematik der künstlich dargestellten Glykoside) handelt. Es folgt als zweiter Teil die systematische Behandlung der pflanzlichen Glykoside, geordnet nach den einzelnen Pflanzenfamilien und eingeleitet durch einige allgemeine Betrachtungen über den Rochleder'schen Gedanken: „Die Verwandtschaft der Pflanzen ist bedingt durch das gleichzeitige Vorhandensein mehrerer Körper von

gleicher chemischer Natur." Der Botaniker wird dem Verf. hier kaum folgen.

Ref. billigt vollkommen die vom Verf. beliebte Anordnung des Materials, bedauert aber doch, daß Verf. nicht einleitungsweise auch eine kurze Klassifikation der Pflanzenglykoside nach chemischen Gesichtspunkten (im Anschluß an Hlasiwetz und Kunz-Krause) gegeben hat. Die Liste der natürlichen Glykoside ist, soweit Ref. zu beurteilen vermag, sehr vollständig. Ref. vermißt einige glykosidische Gerbstoffe (Erle) sowie die Glykoside der Kolanuß und des Kakao, deren Spaltung in Zucker, Kola- resp. Kakaorot und Theobromin bei der technischen Bereitung der Kolanüsse und Kakaosamen erfolgt. Auch die Entstehung des Vanillins in der Vanillefrucht durch Spaltung eines Glykosids hätte Erwähnung verdient. Ein etwas unangenehmer Lapsus ist dem Verf. p. 213 passiert, wo er Saponaria officinalis zu den Rosaceen rechnet, während er (p. 169) Saponaria rubra richtig unter die Caryophyllaceen einreiht. Auf derselben Seite (p. 213) hat ein besonders auffallender Druck, ebenso wie im Register fehlen, aus Prunus spinosa einen Rumex gemacht. Auf die Beseitigung der zahlreichen Druckfehler würde überhaupt bei einer zweiten Auflage besonders zu achten sein.

Diese kleinen Mängel hindern Ref. indessen nicht, das Buch aufs wärmste zu begrüßen und zu empfehlen. Möge das dankenswerte Werk im Sinne seines Verf.'s auch anregend zu weiteren Forschungen wirken. Behrens (Weinsberg).

Ahrens, Felix, B., Ein Beitrag zur zellenfreien Gärung. (Zeitschr. angew. Chemie. 1900. Heft 20. p. 483.)

Verf. hat mit Hefen verschiedener Breslauer Brauereien sowie mit selbstgezüchteter Reinhefe und zu verschiedenen Jahreszeiten nach den Angaben von E. Buchner Hefepreßsaft hergestellt, und immer, nachdem er die nicht ganz einfache Technik beherrschte, ein vorzüglich wirkendes Produkt erhalten. Die anfänglichen Mißerfolge ist Verf. eher auf die Schwierigkeit der Herstellung zurückzuführen geneigt, als auf die Annahme Buchner's, nach welcher in gewissen Lebensperioden, bei gewissen Züchtungsverfahren auch sehr gärkräftige Saccharomyceten vorübergehend keine Zymase zu enthalten scheinen. Wenn es schon etwas unwahrscheinlich ist, daß ein doch zweifellos wichtiger Bestandteil des Zellinhaltes der Hefe vorübergehend ganz verschwindet, so erscheint es nach der Meinung von Ahrens ganz ausgeschlossen, daß die vielen Millionen Hefezellen, die bei der Herstellung auch des kleinsten Quantums Preßsaft in Betracht kommen, alle oder doch in überwiegender Mehrzahl sich in einer Lebensperiode befinden, in der die Zymase fehlt. (Dem Ref. erscheint dies durchaus nicht ausgeschlossen. Wer mit den in Betracht kommenden Verhältnissen vertraut ist, gelangt nicht unschwer zu dieser Anschauung.) Eine völlige Zerstörung derselben durch Einwirkung proteolytischer Enzyme in der lebenden Zelle sei wohl nicht gut annehmbar.

Es ist wohl nicht notwendig, die allmählich sich abschwächende und schließlich ganz verschwindende Gärwirkung eines anfänglich gut

wirkenden Preßsaftes allein auf die zerstörende Wirkung proteolytischer Enzyme zu setzen. Der frisch von der Presse ablaufende Saft ist schwach alkalisch, wird aber sehr schnell sauer. Es ist wohl denkbar, ja bis zu einem gewissen Grad wahrscheinlich, daß die Säure eine allmähliche Umlagerung in der Molekel der Zymase hervorruft, die zur Auslösung der Reaktion mit Zucker nicht mehr befähigt ist. Nach Beendigung eines jeden Gärversuches findet sich ein grauer Niederschlag am Boden des Gefäßes und die vorher stark fluorescierende Flüssigkeit zeigt keine Spur mehr von Fluorescenz sowie auch keine Gärwirkung mehr. Das Verschwinden der Fluorescenz war dem Verf. bei seinen Versuchen mit süßer Maische und Bierwürze stets ein sicheres Zeichen für das Ende der Reaktion. Verf. hält den die Fluorescenz des Preßsaftes bewirkenden Körper für die Zymase und glaubt, daß er sich am Ende der Gärung in veränderter Form als Niederschlag ausgeschieden hat. Ob die Veränderung auf die Reaktion mit dem Zucker oder auf den Einfluß der Säure zurückzuführen ist, bleibt vorläufig offen.

Verf. ist der Ansicht, daß der Gärungserreger nicht wirklich gelöst, sondern als Kolloid in dem Safte vorhanden ist (darin stimmt Ref. dem Verf. bei). Auf seine Gärwirkung geprüfter stark fluorescierende Saft zeigte nach mehrstündigem Stehen in einer Kältemischung aus Schnee und Kochsalz nach langsamem Auftauen einen Niederschlag und darüber eine klare nicht fluorescierende Flüssigkeit, die keine Gärwirkung mehr hervorrief.

Ein Versuch mit filtriertem und sterilisiertem Safte, wie er direkt aus der Presse ablief, und Lagerbierwürze fiel sehr wenig befriedigend aus. Es war offenbar die Mischung zu verdünnt, um eine lebhaftere Reaktion zu ermöglichen. Verf. suchte daher den Preßsaft zu konzentrieren. In vorzüglicher Weise glückte die Konzentration durch Ausfrieren. Der Saft wird in eine Kältemischung gebracht und nicht tiefer als bis auf — 2° abgekühlt. Durch jeweiliges Einrühren sorgte man für das Entstehen von Eisbrei. Die breiige Masse wird schnell und kräftig ausgepreßt.

Mit diesen konzentrierten Säften konnten die Versuche vorzüglich durchgeführt werden, sie eigneten sich besonders zur Demonstration, da sie in Bierwürze bei Zimmertemperatur bereits nach ca. 10 Minuten gleichmäßige Kohlensäureentwickelung hervorriefen.

Verf. teilt verschiedene Versuche mit, in welchen er Bierwürze mit Hefepreßsaft vergären ließ. Das Produkt war in keinem Falle ein befriedigendes. Auch süße Maische aus 30 g Stärke und 25 g Darrmalz hergestellt, wurde mit Hefepreßsaft vergären lassen. Die Gärung setzte normal ein und nahm anfangs einen flotten Verlauf bei 18°. Es wurde dann allmählich auf 5° abgekühlt, wodurch eine derartige Verzögerung des Gärungsverlaufes herbeigeführt wurde, daß die Reaktion erst nach 17 Tagen beendet war. Auch bei diesem Versuch trat mit abnehmender Fluorescenz ein grauer Niederschlag ein; am Ende der Reaktion war die Flüssigkeit klar und ohne jede Fluorescenz. Die vergorene Maische enthielt 5,29 Vol. Proz. Alkohol und zeigte einen Vergärungsgrad von 19,4.

Der Niederschlag wurde durch vielfache Dekantation und schließ-

lich auf dem Filter mit Wasser möglichst ausgewaschen und an der Luft getrocknet. Derselbe enthielt 9,3 Proz. Asche, 41,75 Proz. Kohlenstoff, 6,87 Proz. Wasserstoff oder auf aschefreie Substanz umgerechnet 45,90 Proz. Kohlenstoff und 7,58 Proz. Wasserstoff.

Es wurden in verschiedenen Preßsäften Fällungen vorgenommen, teils mit Zinksulfat, teils mit Alkohol, von welchen letztere kurz berührt werden sollen.

Ein Preßsaft wurde mit Alkohol gefällt, der Niederschlag abfiltriert und auf dem Filter mit Wasser behandelt; es geht ein Teil in Lösung. Diese wurde wieder mit Alkohol gefällt. Der vom Wasser nicht gelöste Teil bildet eine gelbe spröde Masse, der lösliche Teil ein weißes Pulver.

Konzentrierter Preßsaft wurde fraktioniert mit Alkohol gefällt; die erste Fällung liefert nach dem Auswaschen und Trocknen eine graue, die zweite Fällung eine gelbe spröde Masse.

Aus einem Saft von 1,054 spez. Gew. wird durch ungenügende Alkoholfällung ein Niederschlag, der allerdings den größten Teil des Fällbaren ausmacht, hervorgerufen; derselbe wird nach 24 Stunden abfiltriert und mit Wasser gut gewaschen. Eine Probe des Niederschlages wird in Bierwürze suspendiert; es traten keine Gärungserscheinungen auf. Der Niederschlag wurde auf dem Filter mit Ammoniak behandelt, wobei der größte Teil desselben in Lösung ging; die klar abfiltrierte Lösung wurde mit sehr verdünnter Milchsäure gefällt. Der entstandene Niederschlag wurde mit Wasser, verdünntem und absolutem Alkohol ausgewaschen, dann an der Luft und bei ca. 50° getrocknet; es blieb eine spröde graubraune Masse.

Eine Tabelle enthält die Resultate der Analysen der verschiedenen Fällungen, zu welchen einen Kommentar zu geben, dem Verf. verfrüht erscheint. H. Will (München).

Doane, R. W., A new sugar-beet pest and other insects attacking the beet. (Washington Sta. Bull. 42. 14. p. 5 figs.)

Seit 1896 hat Verf. eine neue, der Zuckerrübe schädliche Blattlaus beobachtet. Das Insekt scheint fast überall im Staate Washington verbreitet. Verf. beschreibt die Blattlaus und legt ihr den Namen Pemphigus betae bei. Der Körper samt Füßen und Fühlhörnern ist mit einem weißen Pulver bedeckt. Im Herbst entwickeln sich beflügelte Exemplare. Die gewöhnlichen Wirtspflanzen des Insektes sind Achillea lanulosa und Polygonum aviculare. Der Pemphigus überwintert im Boden an oder in der Nähe von den Wirtspflanzenwurzeln. Bis jetzt ist kein Männchen gefunden und wahrscheinlich pflanzt sich das Insekt auf parthenogenetische Weise fort. Ein regnerischer Frühling und ein trockener Sommer scheinen der raschen Vermehrung dieses Insektes günstig zu sein. Die Häufigkeit von Pemphigus hängt nicht vom Bodencharakter ab.

Direkte Heilmittel gegen diese Blattlaus würden zu kostbar sein. Als Verhütungsmittel empfiehlt Verf. Fruchtwechsel und Vertilgung der wilden Wirtspflanzen des Pemphigus. Verf. macht schließlich kurze Bemerkungen über Psylliodes punctulata und Carneades messoria. E. V. Wilcox (Washington).

Stewart, F. C., Leaf seasch of the sugar beet, cherry, cauliflower and maple. (Bull. No. 16. New York Agr. Exp. Station. 1899. Nov.)

Verf. beschreibt eine Krankheit der Zuckerrüben, welche auch die Kirsche, den Blumenkohl und den Ahorn angreift. Dieselbe ist im vergangenen Sommer im Staate New York sehr häufig aufgetreten. Die Blätter der erkrankten Rübenpflanzen werden schwarz und vertrocknen bald, worauf manchmal die ganze Pflanze abstirbt; in anderen Fällen erholt sie sich wieder. Die Rüben selbst haben zuerst hier und da braune Flecken, welche etwas über die allgemeine Oberfläche hervorragen. Das Fleisch der Rübe ist unter diesen Flecken gebräunt. Bald darauf verfault der braune Teil, so daß hier und da Löcher entstehen. Diejenigen Pflanzen, welche sich nach dem Absterben einiger Blätter erholten, hatten gesunde Rinden, doch waren dieselben meistens kleiner als die Rüben, welche braungefleckt waren. Verf. weist darauf hin, daß es immer die größten und gesundesten Rüben waren, welche braun wurden. Er übertrug verfaultes Gewebe auf gesunde Rüben, ohne Resultat. Aus seinen Schilderungen geht hervor, daß der Tod der Blätter und die darauffolgende Bräunung der Rüben auf physiologische Veränderungen zurückzuführen seien. Die Pflanzen verdunsteten zu der Jahreszeit (sugrot) mehr Wasser als sie aufnehmen konnten, und erfolgte dadurch der Tod als eine Art von Verbrennung.

Er beschreibt darauf ähnliche Vertrocknungserscheinungen bei den anderen Pflanzen. Auf 6 guten Tafeln sind verschiedene Stadien der Krankheit abgebildet. von Schrenk (St. Louis).

Scherpe, R., Die chemischen Veränderungen des Roggens und Weizens beim Schimmeln und Auswachsen. (Arbeiten aus dem kaiserl. Gesundheitsamte. Bd. XV. p. 387—442.)

Der Gedanke, der dieser eingehenden Arbeit zu Grunde liegt, ist die Annahme, daß sowohl beim Verschimmeln wie beim Auswachsen des Getreides stoffliche Veränderungen vor sich gehen, die chemisch nachweisbar sind; weiß man aber erst, welcher Art diese Veränderungen sind, so kann man aus der Analyse von Mehl auch einen Rückschluß auf die Qualität des Getreides ziehen. Verf. stellt sich daher die Aufgabe:

1) den beim Schimmeln und Auswachsen von Roggen und Weizen eintretenden Stoffverlust überhaupt sowie den Verlust an Nährstoffen zu ermitteln;

2) die im Roggen und Weizen beim Schimmeln und Auswachsen stattfindenden chemischen Umwandlungen möglichst vielseitig an mehreren Stellen zu untersuchen, insbesondere festzustellen, welche Bestandteile bezw. welche chemischen Konstanten auch bei schwachem Verderben sich in erheblicherem Grade verändern.

Das zu diesem Zwecke nötige Material bereitete sich Verf. in der Art, daß er Roggen resp. Weizen in einer Holzkiste anfeuchtete, mit Sporen von Penicillium glaucum reichlich besäte und durch häufiges Durchmengen eine ständige Durchlüftung herbeiführte. Durch langsamer oder schneller wiederholten Wasserzusatz konnte die Temperatur wesentlich beeinflußt werden und wurde möglichst darauf

gesehen, daß die Temperatur nicht über 30° stieg, da bei größerer Wärme sehr schnell eine starke Mucor-Vegetation auftrat und das Penicillium verschwand. Fraglich erscheint es dem Ref., ob bei dieser Bereitungsweise nicht Extraktivstoffe in größerer Menge von den Wänden des hölzernen Gefäßes aufgenommen resp. abgegeben werden konnten.

Zur Untersuchung gelangten Proben, die entnommen waren unmittelbar vor Eintritt der starken Temperatursteigerung, und solche, die einige Zeit nach dem Aufhören der intensiven Atmung abgenommen worden waren. Das unter Vermeidung von Schimmelbildung hergestellte gekeimte Getreide wurde untersucht, wenn die Länge des Keimlings etwa 5 mm, die des Würzelchens etwa 1 cm betrug. Alle diese Getreideproben ließen sich leicht mahlen, das geschimmelte Getreide gab sogar ein besonders feines Mehl.

Die sehr zahlreichen und eingehenden Analysen ergaben für die Methodik der chemischen Mehluntersuchung, daß die Bestimmung des Reinproteïns in Mehlen durch Fällung der Proteïnstoffe mit Kupferhydroxyd und Ermittelung des Stickstoffgehaltes in dem Niederschlage nur dann übereinstimmende Werte ergiebt, wenn die Fällung in genau neutraler Lösung vorgenommen und stets die gleiche Menge des Fällungsmittels angewendet wird. Letztere Bedingung ist besonders bei Untersuchungen solcher Vegetabilien zu beobachten, welche peptonartige Bestandteile enthalten.

Der Substanzverlust bei schwachem Verschimmeln, welches die Gebrauchsfähigkeit des Getreides und des Mehles noch nicht merklich beinträchtigt, beträgt wenige Prozente; er wurde im Mindestfalle zu etwa 3 Proz., im Höchstfalle zu 6,6 Proz. gefunden. Starkes Verschimmeln steigert den Verlust, besonders beim Roggen, beträchtlich. Drei Roggenproben erlitten dabei durchschnittlich einen Verlust von 45 Proz., 3 Weizenproben einen solchen von 32 Proz., ohne daß damit ein völliges Verderben des Korns verbunden gewesen wäre. Der Verlust betrifft alle wesentlichen Bestandteile des Getreides mit Ausnahme des Zellstoffs und des Stickstoffs, ziemlich gleichmäßig. Eine verhältnismäßig große Menge Stickstoff geht schon bei schwachem Verschimmeln verloren; für Roggen beträgt der Verlust durchschnittlich 6 Proz., für stickstoffärmeren Weizen 4 Proz., für stickstoffreicheren 0,7 Proz. Der Verlust stark verschimmelten Roggens wurde zu 7—17 Proz., ebensolchen Weizens zu 2,5—10 Proz. gefunden.

Das Auswachsen des Getreides hat einen Substanzverlust zur Folge, der bei Roggen 4—5 Proz., bei stickstoffärmerem Weizen etwa 5 Proz., bei stickstoffreicherem etwa 1 Proz. beträgt. Schreitet das Auswachsen über die Grenze, innerhalb deren die Körner noch als Beimischung zur Handelsware gelten können, fort, so steigert sich natürlich der Substanzverlust. Die einzelnen Bestandteile werden dabei in fast gleicher Weise vermindert, mit Ausnahme des Zellstoffs, der keine Verminderung, vielmehr eher eine kleine Vermehrung erfährt. Der Stickstoffverlust betrug für Roggen 5,5—10 Proz., für stickstoffarmen Weizen schon bei geringem Auswachsen 8 Proz., bei stickstoffreicherem nur 1 Proz. Nach Ansicht des Verf.'s ist derselbe, ebenso wie ein Teil des Gesamtverlustes, auf Auswachsen zurückzuführen.

Auch die chemischen Umwandlungen beim Schimmeln und Auswachsen hat der Verf. in den Kreis seiner Untersuchungen gezogen. In beiden Fällen erhöht sich die Acidität wesentlich; beim Auswachsen nimmt Ref. wohl mit Recht an, daß die Säurezunahme wohl eher auf das sich bei der Feuchthaltung des Getreides entwickelnde Bakterienwachstum als auf das Auswachsen selbst zurückzuführen ist. Der Ammoniakgehalt verändert sich im allgemeinen nicht, erst wenn starkes Verschimmeln eintritt, erhöht sich derselbe. Die Veränderungen im Gehalt an wasserlöslichen Stoffen sind beim Verschimmeln unbedeutend, beim Auswachsen nimmt er regelmäßig zu und ist bereits in schwach ausgewachsenem Getreide von dem des normalen erheblich verschieden; wenig bedeutend ist dabei die Zunahme der wasserlöslichen Stickstoffsubstanz; auch die Vermehrung des Aschengehaltes der wasserlöslichen Stoffe ist nur gering. Die wasserlöslichen Kohlehydrate nehmen schon bei schwachem Auswachsen beträchtlich zu, beim Verschimmeln wurde zuerst eine Zu-, dann eine Abnahme bemerkt; dies ist wohl auf die Thätigkeit verschiedener Mikroorganismen zurückzuführen, wie ja überhaupt der Begriff des Verschimmelns kein feststehender ist. Die diastasehaltigen Pentosane verhalten sich ganz ähnlich wie die wasserlöslichen Kohlehydrate. Die auf Reinproteïn entfallende Menge des Gesamtstickstoffes verhält sich beim Verschimmeln ebenso wie die beiden vorhergehenden Körpergruppen, beim Auswachsen des Roggens tritt eine Verminderung ein, die sich besonders bei abgesiebtem Mehle leicht erkennen läßt. Beim Weizen kann eine Wirkung des Auswachsens auf den Gehalt an Reinproteïn nicht immer nachgewiesen werden. Das Fett endlich vermindert sich beim Verschimmeln, nicht dagegen beim Auswachsen.

Es leuchtet ein, daß neben den Umwandlungen, die durch die Thätigkeit des Penicillium hervorgerufen werden, noch eine ganze Reihe von Vorgängen sich abspielen, die auf andere Organismen zurückzuführen sind, die sich aber unserer Beurteilung entziehen, da wir nicht imstande sind, mit Reinkulturen zu arbeiten. Trotzdem ergeben die Untersuchungen Scherpe's, daß sich zur Untersuchung von Mehlen auf Verdorbensein durch Verschimmeln und Auswachsen folgende Untersuchungen eignen:

1) die Bestimmung der Acidität,
2) die Bestimmung des Gehaltes an wasserlöslichen Stoffen,
3) die Bestimmung des Gehaltes an wasserlöslichen Kohlehydraten.

Als Normalwerte stellt Verf. für diese drei Punkte auf:

	Roggen	Weizen
Acidität	0,05—0,07 Proz.	0,03—0,045 Proz. als Milchs. ber.
Wasserlösl. Substanz	17—21 „	10—15 „
„ Kohlehydr.	etwa 6,5 „	3—3,5 „

Sämtliche Werte sind auf Trockensubstanz bezogen.

Es wäre ein dankenswertes Unternehmen, an möglichst vielem verschiedenen Materiale zu kontrollieren, ob diese Normalen allen vorkommenden Verhältnissen entsprechen, damit diese Bestimmungen allgemein eingeführt werden könnten. Appel (Charlottenburg).

Neue Litteratur,

zusammengestellt von

San.-Rat Dr. Arthur Würzburg,

Bibliothekar im Kaiserl. Gesundheitsamte in Berlin.

Untersuchungsmethoden, Instrumente u. s. w.

Epstein, St., Ein vereinfachtes Verfahren zur Züchtung anaërober Bakterien in Doppelschalen. (Centralbl. f. Bakteriol. etc. I. Abt. Bd. XXVIII. 1900. No. 14/15. p. 443.)

Eyre, J. W. H., Nutrient media of „standard“ reaction for bacteriological work. (Brit. med. Journ. 1900. No. 2074. p. 921—924.)

Grünbaum, A. S., Blood and the identification of bacterial species. (Thompson Yates laborat. rep. Liverpool Vol. II. 1900. p. 1—8.)

v. Wunschheim, O., Ueber einen Apparat für Erregung von gesättigtem Wasserdampf und sterilem Wasser. (Centralbl. f. Bakteriol. etc. I. Abt. Bd. XXVIII. 1900. No. 14/15. p. 439—443.)

Systematik, Morphologie und Biologie.

Aderhold, R., Mycosphaerella cerasella n. sp., die Perithecienform von Cercospora cerasella Sacc. und ihre Entwickelung. (Ber. d. dtsch. botan. Gesellsch. Bd. XVIII. 1900. Heft 6. p. 246—249.)

de Batz, E., Note sur la vitalité de certains microbes. (Compt. rend. de la soc. de biol. 1900. No. 29. p. 815—816.)

Bokorny, Th., Die Enzyme des Pflanzenreiches. (Naturwissensch. Rundschau. 1900. No. 27. p. 337—340.)

Emmerling, O., Ueber Spaltpilzgärungen. (Ber. d. dtsch. chem. Gesellsch. 1900. No. 14. p. 2477—2479.)

Fuhrmann, O., Zur Kenntnis der Acoleïnae. Zwei getrenntgeschlechtliche Cestoden. (Centralbl. f. Bakteriol. etc. I. Abt. Bd. XXVIII. 1900 No. 12/13. p. 363—376.)

Gabritschewsky, G., Ueber aktive Beweglichkeit der Bakterien. (Ztschr. f. Hygiene etc. Bd. XXXV. 1900. Heft 1. p. 104—122.)

Geret, L., Das proteolytische Enzym der Hefe. [Inaug.-Dissert.] gr. 8°. 59 p. München 1900.

de Joannis, J., Description d'un microlépidoptère nouveau, nuisible au vanillier et provenant de l'île de la Réunion. (Bullet. de la soc. entomol. de France. 1900. No. 13. p. 262—263.)

Kayser, E., Contribution à la nutrition intracellulaire des levures. (Annal. de l'Instit. Pasteur. 1900. No. 9. p. 605—631.)

Küster, E., Ueber einige wichtige Fragen der pathologischen Pflanzenanatomie. (Biolog. Centralbl. 1900. No. 16. p. 529—543.)

Macfadyen, A., Morris, G. H. und Rowland, S., Ueber ausgepreßtes Hefezellplasma (Buchner's „Zymase“). 1. Mitt. (Ber. d. dtsch. chem. Gesellsch. 1900. No. 14. p. 2764—2790.)

Ransom, B. H., A new avian cestode — Metroliasthes (n. g.) lucida (n. sp.). (Transact. of the Amer. microscop. soc. Vol. XXI. 1900. p. 213—226.)

v. Rátz, St., Ueber Distomum saginatum n. sp. Vorl. Mitt. (Centralbl. f. Bakteriol. etc. I. Abt. Bd. XXVIII. 1900. No. 14/15. p. 437—439.)

Rosenberg, W. W., Beiträge zur Kenntnis der Bakterienfarbstoffe, insbesondere der Gruppe des Bacterium prodigiosum. gr. 8°. 40 p. Würzburg 1899.

Schierbeck, N. P., Ueber die Variabilität der Milchsäurebakterien mit Bezug auf die Gärungsfähigkeit. (Arch. f. Hygiene. Bd. XXXVIII. 1900. Heft 3. p. 294—315.)

Stafford, J., Some undescribed trematodes. (Zool. Jahrb. Abt. f. System., Geogr. u. Biol. d. Tiere. Bd. XIII. 1900. Heft 5. p. 399—414.)

Tassi, Fl., Novae micromycetum species descriptae et iconibus illustratae. (Bullett. d. laborat. ed orto botan. di Siena. Vol. III. 1900. Fasc. 2. p. 52—57.)

Beziehungen der Bakterien und Parasiten zur unbelebten Natur.

Luft und Wasser.

Boyce, R. W. and Hill, Ch. A., A classification of the micro-organisms found in water. (Thompson Yates laborat. rep Liverpool. Vol. II. 1900. p. 37—40.)

Linsley, J. H. and Stone, B. H., The significance of the bacillus coli communis in drinking-water. (Med. record. Vol. LVIII. 1900. No. 9. p. 324—327.)

Spitta, O., Untersuchungen über die Verunreinigung und Selbstreinigung der Flüsse. (Arch. f. Hygiene. Bd. XXXVIII. 1900. Heft 3. p. 215—293.)

Weissenfeld, J., Der Befund des Bacterium coli im Wasser und das Tierexperiment sind keine brauchbaren Hilfsmittel für die hygienische Beurteilung des Wassers. (Ztschr. f. Hygiene etc. Bd. XXXV. 1900. Heft 1. p. 78—86.)

Boden.

Godlewski, Ueber den Einfluß der gasförmigen Kohlensäure auf die Salpeterbildung. (Ztschr. d. Ver. d. dtsch. Zuckerindustrie. 1900. Lief. 535. p. 708—710.)

Omeliansky, V., Ueber die Kultur der Salpeter bildenden Organismen des Bodens. (Ztschr. d. Ver. d. dtsch. Zuckerindustrie. 1900. Lief. 535. p. 695—699.)

Pfeiffer, Th. und **Lemmermann, O.**, Denitrifikation und Stallmistwirkung. (Landwirtschaftl. Versuchsstationen. 1900. Heft 5/6. p. 386—462.)

Winogradsky, S. und **Omeliansky, V.**, Ueber den Einfluß organischer Substanzen auf die Arbeit der Salpeter bildenden Mikroorganismen. (Ztschr. d. Ver. d. dtsch. Zuckerindustrie. 1900. Lief. 535. p. 699—707.)

Nahrungs- und Genußmittel im allgemeinen, Gebrauchsgegenstände.

Fleisch.

Lauk, Acht Fälle von Wurstvergiftung. (Münch. med. Wchschr. 1900. No. 39. p. 1345—1347.)

Morot, Les viandes impropres à l'alimentation humaine. Justification des motifs de saisie. Nécessité d'une réglementation uniforme. Rapport. Angers 1900.

Vaillard, L., Les conserves alimentaires de viande. (Rev. d'hygiène. 1900. No. 9. p. 782—792.)

Milch, Molkerei.

Annett, H. E., Boric acid and formalin as milk preservatives. (Thompson Yates laborat. rep. Liverpool. Vol. II. 1900. p. 57—67.)

Wein, Weinbereitung.

Fallot, B., La levure alcoolique et la vinification. (Moniteur vinicole. 1900. No. 64. p. 254.)

Semichon, L., Vinification des vendanges atteintes de pourriture. (Rev. de viticult. 1900. No. 356. p. 393—396.)

Andere Nahrungs- und Genußmittel.

Herdman, W. A. and **Boyce, R.**, Oysters and disease. An account of certain observations upon the normal and pathological histology and bacteriology of the oyster and other shellfish. (Thompson Yates laborat. rep. Liverpool. Vol. II. 1900. Suppl. 60 p.)

Wohnungen, Abfallstoffe etc.

Abba, F. und **Rondelli, A.**, Weitere behufs Desinfektion von Wohnräumen mit dem Flügge'schen und dem Schering'schen (kombinierten Aeskulap-Apparat) formogenen Apparat ausgeführte Versuche. III. Mitt. (Centralbl. f. Bakteriol. etc. I. Abt. Bd. XXVIII. 1900. No. 12/13. p. 377—384.)

Heuser, C., Die Einführung des bakteriologischen Verfahrens zur Reinigung der Schmutzwässer der Stadt Manchester. (Technisches Gemeindeblatt. 1900. No. 10—12. p. 149—151, 167—169, 183—187.)

Beziehungen der Bakterien und Parasiten zu Pflanzen.

Harmlose Bakterien und Parasiten.

Hiltner, L., Ueber die Ursachen, welche die Größe, Zahl, Stellung und Wirkung der Wurzelknöllchen der Leguminosen bedingen. (Arb. a. d. biolog. Abt. f. Land- u. Forstwirtschaft am kaiserl. Gesundh.-A. Bd. I. 1900. Heft 2. p. 177—222.)

Krankheitserregende Bakterien und Parasiten.

Bellot des Minières, Un nouvel insecte de la vigne l'Eudemis Botrana. (Vigne franç. 1900. No. 15. p. 227—230.)

Bizzozero, A., Istruzioni pratiche per combattere la peronospora e la crittogama. 16°. 29 p. Parma (Tip. Rossi-Ubaldi) 1900. 0,20 L.

Bouillot, C., Chlorose ou jaunisse des arbres fruitiers. (Semaine hortic. 1900. p. 23, 35—36, 59—60, 95.)

Cordley, A. B., Some observations on apple tree anthracnose. (Botan. gazette. Vol. XXX. 1900. No. 1. p. 48—58.)

Duarte d'Oliveira, Un ennemi de l'Araucaria. (Bullet. d'arboricult. et de floricult. potagère. 1900. p. 66.)

Eriksson, J., La rouille des céréales. (VI. Congrès internat. d'agricult. Paris. T. I. 1900.) 8°. 8 p. Paris 1900.

Frank, Beiträge zur Bekämpfung des Unkrautes durch Metallsalze. (Arb. a. d. biolog. Abt. f. Land- u. Forstwirtsch. am kaiserl. Gesundh.-A. Bd. I. 1900. Heft 2. p. 127—175.)

— —, Gelungene Infektionsversuche mit dem Pilze des rheinischen Kirschbaumsterbens. (Dtsche landwirtschaftl. Presse. 1900. No. 83. p. 1024—1025.)

Giard, A., Sur l'existence de Ceratitis capitata Wied., var. hispanica de Brême, aux environs de Paris. (Compt. rend. de l'acad. d. scienc. T. CXXXI. 1900. No. 8. p. 436—438.)

Howard, A., A disease of Tradescantia. (Annals of botany. 1900. March.)

de Jaczewski, A., Un nouveau parasite du Sceau-de-Salomon, Cylindrosporium Komarowi. (Rev. mycolog. 1900. No. 87. p. 78—79.)

Laborde, J., La lutte contre la Cochylis. (Rev. de viticult. 1900. No. 349. p. 201—205.)

Morassutti, G., Istruzione pratica per combattere la peronospora e l'oidio della vite. 16°. 8 p. Fermo (Tip. Bacher) 1900.

Norme e consigli sulle viti resistenti alla fillossera e sull'innesto. 8°. 53 p. Casale (Tip. C. Cassone) 1900.

Trotter, A., Prima communicazione intorno alle galle (zoocecidi) del Portogallo. (Bolet. da socied. Broteriana. 1899. No. 3/4. p. 196—215.)

v. Tubeuf, C., Ueber die Biologie, praktische Bedeutung und Bekämpfung des Weymouthskiefern-Blasenrostes. (Kaiserl. Gesundheitsamt. Biolog. Abt. f. Land- u. Forstwirtschaft. Flugblatt No. 5. Juni 1900.) gr. 8°. 4 p. Berlin (P. Parey & J. Springer) 1900. 0,05 M.

Zehntner, L., De plantenluizen van het suikerriet op Java. VIII en IX. (Verslag over 1899 van het proefstat. v. suikerriet in West-Java te Kagok-Tegal. 1900. p. 15—20.)

Entwickelungshemmung und Vernichtung der Bakterien.

Dawit, St., Zur Frage über die Wirkung des Formaldehyds auf Getreidesamen und Brandsporen. Resumé. (Sitzber. d. Naturforscher-Ges. bei d. Univ. Jurjeff. Bd. XII. 1899. Heft 2. p. 202—204.)

Wilcox, E. V., Crude petroleum as an insecticide. (U. St. Departm. of Agricult. Farmer's Bullet. No. 114. Experim. stat. work XIV. Washington 1900. p. 15—16.)

Inhalt.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.

Centralblatt

für

Bakteriologie, Parasitenkunde u. Infektionskrankheiten.

Zweite Abteilung:

Allgemeine, landwirtschaftlich-technologische Bakteriologie, Gärungsphysiologie, Pflanzenpathologie und Pflanzenschutz.

In Verbindung mit

Prof. Dr. **Adametz** in Wien, Prof. Dr. **J. Behrens** in Weinsberg i. W., Prof. Dr. **M. W. Beijerinck** in Delft, Dr. **v. Freudenreich** in Bern, Privatdocent Dr. **Lindau** in Berlin, Prof. Dr. **Lindner** in Berlin, Dr. **Morris**, Chef des Hansen-Laboratory, Jenner-Institute of Preventive Medicine in London, Prof. Dr. **Müller-Thurgau** in Wädensweil, Dr. **Erwin F. Smith** in Washington, D. C., U. S. A., Prof. Dr. **Stutzer** in Breslau, Prof. Dr. **Wehmer** in Hannover, Prof. Dr. **Weigmann** in Kiel und Prof. Dr. **Winogradsky** in St. Petersburg

herausgegeben von

Dr. O. Uhlworm in Cassel

und

Prof. Dr. Emil Christian Hansen in Kopenhagen.

Verlag von Gustav Fischer in Jena.

VI. Bd. **Jena**, den 4. Dezember 1900. **No. 23.**

Jährlich erscheinen 26 Nummern. Preis für den Band (Jahrgang) 20 Mark. Preis für eine einfache Nummer 75 Pfg., für eine Doppelnummer 1 Mark 50 Pfg. Nummern mit Tafeln kosten für jede Tafel 50 Pfg. mehr.

Hierzu als regelmäfsige Beilage die Inhaltsübersichten der I. Abteilung des Centralblattes.

Wünsche wegen Lieferung von besonderen Abdrücken wollen die Herren Mitarbeiter auf die Manuskripte schreiben oder bei Rücksendung der ersten Korrekturabzüge der Verlagsbuchhandlung mitteilen.

Original-Mitteilungen.

Der Einfluss der Kohlensäure auf die Gärung.

[Mitteilungen aus der vom Kgl. bayer. Staate subventionierten Versuchsstation für Bierbrauerei zu Nürnberg.]

Von Dr. **Hugo Ortloff.**

Schluss.

In den vorstehenden Tabellen sind die Resultate niedergelegt, wie ich sie bei den Versuchen gefunden habe. Ich bemerke hierzu

noch, daß die Resultate der mit den Hefen Saaz, Frohberg, Logos bei gewöhnlicher Gärung angestellten Versuche der schon wiederholt erwähnten Arbeit von F. Heß, daß ferner die Resultate des Versuchs Sacch. Pastorianus III bei gewöhnlicher Gärung einer Abhandlung von Syrée „Der Konkurrenzkampf verschiedener Heferassen" entnommen sind[1]).

Ehe ich nun des Näheren auf die Resultate eingehe, halte ich es für zweckmäßig, des besseren Verständnisses halber zuvor einige gärungsphysiologische Begriffe zu erläutern[2]).

Die Lebensthätigkeit der Hefe macht sich in zwei Richtungen bemerkbar: In der Neubildung von Zellen und in der eigentlichen Gärthätigkeit.

Diese beiden Funktionen äußern sich bei verschiedenen Hefen in der Art, daß die einen mehr neue Zellen bilden, dafür aber weniger Zucker zu zersetzen vermögen, während andere Hefen weniger neue Zellen produzieren und mehr Zucker spalten.

Bei den einen ist also mehr Neigung zur Vermehrung, bei den anderen mehr Neigung zur Zuckerspaltung vorhanden, oder mit anderen Worten, die einen Hefen besitzen ein geringeres Vermehrungsvermögen, aber größeres Gärvermögen, bei den anderen ist das Verhältnis das entgegengesetzte.

Die Gesamtarbeitsleistung der Hefe setzt sich somit aus dem Gärvermögen, d. h. aus dem Vermögen, Zucker und andere Nährstoffe zu spalten, neue Körper zu bilden und dem Vermehrungsvermögen, d. h. neue Zellen hervorzubringen, zusammen.

Unter besonderen Bedingungen kann die Hefe auch zur Arbeitsleistung in einer Richtung gezwungen werden, indem sie entweder nur neue Zellen bildet oder Zucker spaltet. In der Regel laufen diese beiden Lebensfunktionen nebeneinander. Vei Verwendung von sehr wenig Hefe und viel Nährflüssigkeit geht der zuckerspaltenden Thätigkeit meist die Vermehrung voraus und es tritt erst dann, wenn letztere bis zu einem gewissen Grade vorgeschritten ist, Gärung ein.

Vermehrungsenergie ist die Vermehrung der Zellen in den ersten 4 Tagen.

Vermehrungsvermögen ist die Anzahl der Zellen nach beendeter Gärung.

Unter Gärungsenergie ist diejenige Menge Zucker verstanden, welche nach 4 Tagen, unter Gärungsvermögen diejenige, welche nach 28 Tagen von 1 Million Hefezellen gespalten ist.

Nach diesen Erklärungen gehe ich nun auf den Vergleich der einzelnen Versuche ein, der sich auf folgende Punkte erstreckt:

1) Wieviel Rohrzucker ist invertiert, d. h. wieviel Rohrzucker ist in Invertzucker verwandelt?

2) Wieviel Dextrose und Lävulose ist noch vorhanden?

3) Wie verläuft die Gärung im allgemeinen?

4) Wieviel Alkohol ist gebildet?

---

1) Centralbl. f. Bakt. etc. 2. Abt. Bd. V. p. 6 ff.

2) Prior, a. a. O. p. 358.

5) Wieviel Säure ist gebildet?
6) Wie groß ist
   a. die Vermehrungsenergie?
   b. das Vermehrungsvermögen?
7) Wie groß ist
   a. die Gärungsenergie?
   b. das Gärvermögen?

1. Wieviel Rohrzucker ist invertiert bezw. wieviel Rohrzucker ist in Invertzucker verwandelt?

Es wurde Rohrzucker invertiert nach 4 Tagen:

Bei den Hefen	Saaz	Frohberg	Logos	Past. I	Past. II	Past. III	Ell. I	Ell. II	Sacch. cer.
Bei gewöhnlicher Gärung %	100	100	69,54	85,9	79,22	56,5	79,25	80,34	88,28
Bei der Gärung im Kohlensäurestrom %	98,05	100	72,47	54,93	85,43	69,43	89,84	73,39	97,97

Nach 8 Tagen:

Bei den Hefen	Saaz	Frohberg	Logos	Past. I	Past. II	Past. III	Ell. I	Ell. II	Sacch. cer.
Bei gewöhnlicher Gärung %	100	100	100	100	93,52	88,5	97,47	100	100
Bei der Gärung im Kohlensäurestrom %	100	100	100	94,36	98,71	100	95,68	87,92	100

Nach 14 Tagen war von allen Hefen sowohl bei der gewöhnlichen Gärung als auch im Kohlensäurestrom sämtlicher Rohrzucker invertiert.

Aus den obigen Zahlen ergiebt sich zunächst, daß die Hefe Frohberg die einzige ist, bei der sowohl bei der gewöhnlichen Gärung als auch bei der Gärung im Kohlensäurestrom sämtlicher Rohrzucker bereits nach 4 Tagen invertiert ist. Nach 8 Tagen war aller Rohrzucker invertiert, abgesehen von Frohberg, von den Hefen Saaz, Logos und Saccharomyces cerevisiae bei beiden Gärungen, bei Saccharomyces Pastorianus I und Saccharomyces Ellipsoideus II bei gewöhnlicher Gärung und schließlich bei Saccharomyces Pastorianus III bei der Gärung im Kohlensäurestrom. Bei den übrigen Hefen waren noch, wenn auch nur geringe Quantitäten, Rohrzucker vorhanden.

Im übrigen zeigen die obigen Zahlen, daß die Kohlensäure teilweise einen etwas fördernden, teilweise auch einen etwas hemmenden Einfluß auf das Inversionsvermögen bei den verschiedenen Hefearten auszuüben scheint.

2. Wieviel Dextrose und Lävulose ist noch vorhanden, bezw. wie ist das Verhältnis von Dextrose zu Lävulose im unvergorenen Zuckerrest?

Nach 4 Tagen ist vorhanden:

Bei den Hefen		Saaz	Frohberg	Logos	Past. I	Past. II	Past. III	Ell. I	Ell. II	Sacch. cer.
Bei gewöhnlicher Gärung	Dextrose %	40,55	43,38	50,67	36,04	20,1	32,29	31,29	23,05	35,24
	Lävulose %	59,44	56,61	49,32	63,95	79,89	68,08	68,71	76,94	64,74
Bei der Gärung im Kohlensäurestrom	Dextrose %	47,41	45,56	45,06	63,22	53,9	46,12	43,11	43,25	46,02
	Lävulose %	52,58	54,42	54,82	36,77	46,06	53,87	56,88	56,74	53,97

Nach 14 Tagen ist vorhanden:

Bei den Hefen		Saaz	Frohberg	Logos	Past. I	Past. II	Past. III	Ell. I	Ell. II	Sacch. cer.
Bei gewöhnlicher Gärung	Dextrose %	22,17	34,84	—	28,07	—	—	—	—	18,34
	Lävulose %	77,82	65,15	—	71,93	—	100	—	—	81,65
Bei der Gärung im Kohlensäurestrom	Dextrose %	33,62	38,3	41,59	37,37	38,83	18,77	36,96	16,36	40,28
	Lävulose %	66,37	61,69	58,40	62,62	61,16	81,22	63,03	83,63	59,71

Die Dextrosezahlen sind fast ausnahmslos kleiner als die Lävulosezahlen; es wird demnach zunächst und am meisten die Dextrose vergoren. Bringen wir die bei der gewöhnlichen Gärung erhaltenen Zahlen mit denen der Gärung im Kohlensäurestrom in Vergleich, so fällt der Umstand auf, daß die zuerst erwähnte Eigenschaft bei der gewöhnlichen Gärung in größerem Maßstabe zu Tage tritt. Durch die Kohlensäure wird also die Vergärung der Dextrose erschwert. Dies dürfte jedoch nur scheinbar der Fall sein, da die Vermehrung der Zellen im Kohlensäurestrom geringer ist.

Nicht uninteressant ist die Thatsache, daß nach 14 Tagen bei der Hefe Saccharomyces Pastorianus III bei gewöhnlicher Gärung nur Lävulose vorhanden ist.

3. Wie verläuft die Gärung im allgemeinen?

Nach 4 Tagen war Rohrzucker vergoren:

Bei den Hefen	Saaz	Frohberg	Logos	Past. I	Past. II	Pat II	Ell. I	Ell. II	Sacch. cer.
Bei gewöhnlicher Gärung %	26,42	30,43	47,84	21,29	54,9	29,6	51,25	60,14	41,36
Bei der Gärung im Kohlensäurestrom %	16,91	23,77	27,52	10,17	21,84	8,61	23,15	25,16	24,83

Nach 28 Tagen bezw. nach beendeter Gärung war Rohrzucker vergoren:

Bei den Hefen	Saaz	Frohberg	Logos	Past. I	Past. II	Past. III	Ell. I	Ell. II	Sacch. cer.
Bei gewöhnlicher Gärung %	100	72,77	100	79,76	100	100	100	100	97,47
Bei der Gärung im Kohlensäurestrom %	91,79	76,12	100	71,96	79,99	100	81,9	100	59,74

Aus diesen Tabellen ist zunächst ersichtlich, daß, wenn man von der Arbeitsleistung der einzelnen Zelle absieht und die Gärung nur im ganzen Verlauf in Betracht zieht, die Gärung im Kohlensäurestrom anscheinend gehemmt wird. Vergleichen wir weiter die Resultate nach 4 und nach 28 Tagen, so fällt der Umstand auf, daß die Unterschiede zwischen der gewöhnlichen Gärung und der Gärung im Kohlensäurestrom nach 4 Tagen weit erheblicher sind als nach 28 Tagen. Daraus folgt, daß hauptsächlich die Angärung durch die Kohlensäure scheinbar gehemmt wird, während später die Kohlensäure weniger hemmend auf die Gärung einwirkt, ja, daß sie sogar, wie ich weiter unten darlegen werde, bewirkt, daß, bei der großen Mehrzahl der von mir in Anwendung gebrachten Hefen wenigstens, die einzelne Zelle im Kohlensäurestrom eine größere zuckerspaltende Arbeit ausübt als bei der gewöhnlichen Gärung, eine Thatsache, die auch schon Hansen, wie oben erwähnt, aus den Delbrück'schen Versuchen ableitete. Bei gewöhnlicher Gärung ist nach 4 Tagen die Hefe Sacch. Ellipsoideus II am weitesten in der Vergärung vorgeschritten; ihr folgen die Hefen Sacch. Past. II, Logos, Sacch. cerevisiae, Frohberg, Sacch. Pastorianus III, Saaz, Sacch. Pastorianus I. Am schnellsten gänzlich, nämlich bereits nach 8 Tagen, ist Sach. Ellipsoideus II vergoren; Sacch. Pastorianus II, Logos und Sacch. Ellipsoideus I sind nach 14 Tagen, Saaz und Sacch. Pastorianus III nach 28 Tagen vergoren, während Sacch. cerevisiae nach 21 und Frohberg sowie Sacch. Pastorianus I nach 28 Tagen den Zucker noch nicht vollständig vergoren haben.

Bei der Gärung im Kohlensäurestrom steht nach 4 Tagen die Hefe Logos an der Spitze, worauf die Hefen Sacch. Ellipsoideus II, Sacch. cerevisiae, Frohberg, Sacch. Ellipsoideus I, Sacch. Pastorianus II, Saaz, Sacch. Pastorianus I und Sacch. Pastorianus III folgen. Nach 28 Tagen ist diese Reihenfolge wesentlich verändert. Gänzlich wurde der Zucker, und zwar nach 28 Tagen, durch die Hefen Logos, Sacch. Pastorianus III und Sacch. Ellipsoideus II. vergoren; es folgen sodann in der Reihenfolge der Größe der Vergärung Saaz, Sacch. Ellipsoideus I, Sacch. Pastorianus II, Frohberg, Sacch. Pastorianus I und Sacch. cerevisiae.

4. Wieviel Alkohol ist gebildet?

Nach 4 Tagen war Alkohol vorhanden:

Bei den Hefen	Saaz	Frohberg	Logos	Past. I	Past. II	Past. III	Ell. I	Ell. II	Sacch. cer.
Bei gewöhnlicher Gärung	1,08 g = 41,60 %	1,49 g = 46,41 %	2,3 g = 50,63 %	0,99 g = 48,72 %	2,56 g = 48,7 %	1,3 g = 45,8 %	2,45 g = 48,3 %	2,92 g = 49,06 %	2,02 g = 49,26 %
Bei der Gärung im Kohlensäurestrom	0,77 g = 46,34 %	1,07 g = 45,92 %	1,34 g = 49,63 %	0,43 g = 43,87 %	0,92 g = 48,62 %	0,38 g = 44,44 %	1,01 g = 44,10 %	1,01 g = 40,57 %	1,16 g = 50,0 %

Nach 28 Tagen bezw. nach beendeter Gärung war Alkohol vorhanden:

Bei den Hefen	Saaz	Frohberg	Logos	Past. I	Past. II	Past. III	Ell. I	Ell. II	Sacch. cer.
Bei gewöhnlicher Gärung	4,95 g = 50,3 %	3,60 g = 50,63 %	5,0 g = 51,22 %	3,94 g = 50,38 %	4,88 g = 50,9 %	4,94 g = 51,5 %	5,0 g = 50,5 %	4,93 g = 49,8 %	5,02 g = 52,29 %
Bei der Gärung im Kohlensäurestrom	4,45 g = 48,01 %	3,73 g = 50,0 %	4,96 g = 50,61 %	3,53 g = 50,93 %	3,84 g = 51,41 %	4,97 g = 50,35 %	3,99 g = 49,25 %	5,09 g = 51,56 %	2,83 g = 50,53 %

Analog den bei dem Kapitel „Vergärung“ gefundenen Resultaten zeigen uns die bei der Bestimmung des Alkohols erhaltenen Zahlen, daß im Kohlensäurestrom weniger Alkohol gebildet wird, und zwar nicht nur als absolute Quantität, sondern auch im Vergleich zu den vergorenen Rohrzuckermengen.

5. Wieviel Säure ist gebildet?

Es wurde Säure gebildet nach 4 Tagen:

a) Bei gewöhnlicher Gärung:

Bei den Hefen	Saaz	Frohberg	Logos	Past. I	Past. II	Past. III	Ell. I	Ell. II	Sacch. cer.
1) Direkt titriert in ccm	10,1	12,7	15,6	8,4	12,6	5,9	11,6	14,2	11,0
2) Fixe organische Säuren in ccm	4,5	8,1	9,8	5,2	8,2	3,4	8,8	9,4	7,4
3) Flüchtige „ „ „ „	5,6	4,6	5,8	2,8	4,8	2,6	3,2	4,2	3,4

b) Bei der Gärung im Kohlensäurestrom:

Bei den Hefen	Saaz	Frohberg	Logos	Past. I	Past. II	Past. III	Ell. I	Ell. II	Sacch. cer.
1) Direkt titriert in ccm	7,2	7,6	12,0	6,0	9,6	4,8	6,2	9,6	13,6
2) Fixe organische Säuren in ccm	5,6	5,6	9,6	3,0	6,2	3,2	4,6	6,6	7,6
3) Flüchtige „ „ „ „	2,0	2,0	2,8	2,0	3,0	1,4	2,0	2,4	4,6

Es wurde Säure gebildet nach 28 Tagen bezw. nach beendeter Gärung:

a) Bei gewöhnlicher Gärung:

Bei den Hefen	Saaz	Frohberg	Logos	Past. I	Past. II	Past. III	Ell. I	Ell. II	Sacch. cer.
1) Direkt titriert in ccm	23,8	18,1	22,9	23,2	20,8	20,1	19,6	18,6	20,0
2) Fixe organische Säuren in ccm	14,3	12,5	14,3	15,0	12,4	14,1	14,0	13,2	14,2
3) Flüchtige „ „ „ „	9,5	5,6	8,6	6,4	8,8	5,9	5,6	5,8	6,0

b) Bei der Gärung im Kohlensäurestrom:

Bei den Hefen	Saaz	Frohberg	Logos	Past. I	Past. II	Past. III	Ell. I	Ell. II	Sacch. cer.
1) Direkt titriert in ccm	22,4	19,2	24,0	20,0	22,4	19,2	14,4	20,8	17,6
2) Fixe organische Säuren in ccm	16,4	14,8	16,4	16,0	14,2	14,0	9,6	14,4	10,8
3) Flüchtige „ „ „ „	7,2	5,6	7,2	3,4	7,8	6,4	4,8	6,0	6,8

Diese Zahlen zeigen uns, daß allgemeine Sätze über Säurebildung bei gewöhnlicher Gärung und bei Gärung im Kohlensäurestrom sich nicht aufstellen lassen, da die gefundenen Zahlen einmal bei dieser, das andere Mal bei jener Gärung größer oder kleiner sind. Bemerkenswert ist der eine Umstand, daß die fixen organischen Säuren bei der Gärung im Kohlensäurestrom größer sind als bei der gewöhnlichen Gärung, 2 Hefen — *Sacch. Ellipsoideus I* und *Sacch. cerevisiae* — ausgenommen.

6. *Wie groß ist die Vermehrung?*

und zwar a) die Vermehrungsenergie, d. h. die Zellenvermehrung nach 4 Tagen?

Die Vermehrung nach 4 Tagen ist:

Bei den Hefen	Saaz	Frohberg	Logos	Past. I	Past. II	Past. III	Ell. I	Ell. II	Sacch. cer.
Bei gewöhnlicher Gärung	1459	1110	2910	935	1081	921	1349	1286	1368
Bei der Gärung im Kohlensäurestrom	1094	783	1357	763	776	750	730	872	806

Wir konstatieren in allen Fällen eine Verminderung der Zellen im Kohlensäurestrom, d. h. die Vermehrungsenergie wird durch die Kohlensäure vermindert. Diesem Umstand ist auch die scheinbare gärungshemmende Wirkung der Kohlensäure mit ihren Folgen in Bezug auf Zuckerzersetzung, Alkohol- und Säurebildung u. s. w. zuzuschreiben.

Die größte Vermehrungsenergie bei gewöhnlicher Gärung zeigt Logos; ihr folgen die Hefen Saaz, *Sacch. cerevisiae*, *Sacch.*

Ellipsoideus I, Sacch. Ellipsoideus II, Frohberg, Sacch. Pastorianus II, Sacch. Pastorianus I und Sacch. Pastorianus III. Bei der Gärung im Kohlensäurestrom steht ebenfalls Logos an der Spitze, worauf Saaz, Sacch. Ellipsoideus II, Sacch. cerevisiae, Frohberg, Sacch. Pastorianus II, I, III und schließlich Sacch. Ellipsoideus I folgen.

b) Das Vermehrungsvermögen, d. h. die Vermehrung der Zellen nach 28 Tagen?

Die Vermehrung nach 28 Tagen ist:

Bei den Hefen	Saaz	Frohberg	Logos	Past. I	Past. II	Past. III	Ell. I	Ell. II	Sacch. cer.
Bei gewöhnlicher Gärung	1529	1659	3049	1513	1626	1310	1811	1416	1967
Bei der Gärung im Kohlensäurestrom	1245	1345	1643	1713	936	1361	1481	1130	952

Aus diesen Zahlen ergiebt sich, daß auch das Vermehrungsvermögen mit Ausnahme von 2 Hefen, Sacch. Pastorianus I und III, durch die Kohlensäure beschränkt wird. Das größte Vermehrungsvermögen bei gewöhnlicher Gärung zeigt Logos; es folgen in weitem Abstand von dieser Hefe Sacch. cerevisiae, Sacch. Ellipsoideus I, Frohberg, Sacch. Pastorianus II, Saaz, Sacch. Pastorianus I, Sacch. Ellipsoideus II, Sacch. Pastorianus III. Bei der Gärung im Kohlensäurestrom steht Sacch. Pastorianus I obenan, während Logos erst an zweiter Stelle kommt. Hieran schließen sich Sacch. Ellipsoideus I, Sacch. Pastorianus III, Frohberg, Saaz, Sacch. Ellipsoideus II, Sacch. cerevisiae und endlich Sacch. Pastorianus II.

7. Wie groß ist a) die Gärungsenergie, b) das Gärvermögen?

a) Nach 4 Tagen sind durch eine Million Hefezellen Milligramm Zucker gespalten worden:

Bei den Hefen	Saaz	Frohberg	Logos	Past. I	Past. II	Past. III	Ell. I	Ell. II	Sacch. cer.
Bei gewöhnlicher Gärung	0,92	1,47	0,83	1,113	2,471	1,61	1,797	2,315	1,575
Bei der Gärung im Kohlensäurestrom	0,77	1,549	0,988	0,628	1,303	0,596	1,583	1,470	1,468

Die Gärungsenergie wird also mit Ausnahme der Hefen Frohberg und Logos bei allen Hefen durch die Kohlensäure gehemmt.

Die größte Gärungsenergie besitzt bei gewöhnlicher Gärung Sacch. Pastorianus II; es folgen Sacch. Ellipsoideus II und I, Sacch. Pastorianus III, Sacch. cerevisiae, Frohberg, Sacch. Pastorianus I, Saaz und schließlich Logos, die im

Gegensatz zur größten Vermehrungsenergie die kleinste Gärungsenergie aufweist. Bei der Gärung im Kohlensäurestrom ist die Reihenfolge die folgende: Sacch. Ellipsoideus I, Frohberg, Sacch. Ellipsoideus II, Sacch. cerevisiae, Sacch. Pastorianus II, Logos, Saaz, Sacch. Pastorianus I und III.

b) Nach 28 Tagen bezw. nach beendeter Gärung sind durch eine Million Hefezellen Milligramm Zucker gespalten:

Bei den Hefen	Saaz	Frohberg	Logos	Past. I	Past. II	Past. III	Ell. I	Ell. II	Sacch. cer.
Bei der gewöhnlichen Gärung	3,83	2,17	1,65	2,583	2,993	3,74	2,578	3,495	2,553
Bei der Gärung im Kohlensäurestrom	3,673	2,887	2,96	2,235	3,989	3,776	2,761	4,505	3,149

Das Gärvermögen wird also durch die Kohlensäure fast in allen Fällen bedeutend erhöht; Ausnahmen bilden nur Saaz, Sacch. Pastorianus I und III, sowie Sacch. Ellipsoideus I, bei denen das Gärvermögen als gleich zu erachten ist.

Bei der gewöhnlichen Gärung zeigt das größte Gärvermögen die Hefe Saaz, worauf Sacch. Pastorianus III, Sacch. Ellipsoideus II, Sacch. Pastorianus II und I, Sacch. Ellipsoideus I, Sacch. cerevisiae, Frohberg und Logos folgen. Bei der Gärung im Kohlensäurestrom steht Sacch. Ellipsoideus II obenan, der sich Sacch. Pastorianus II und III, Saaz, Sacch. cerevisiae, Logos, Frohberg, Sacch. Ellipsoideus I und Sacch. Pastorianus I anschließen.

Vergleichen wir die für die Vermehrungsenergie, sowie das Vermehrungsvermögen einerseits, die Gärungsenergie und das Gärungsvermögen andererseits gefundenen Zahlen weiter, so finden wir, daß die Reihenfolge der Hefen, was Vermehrung und Gärungswirkung anlangt, unter sich wesentlich verändert ist, woraus zu entnehmen ist, daß der Einfluß der Kohlensäure in Bezug auf die Vermehrung und Gärung auf die einzelnen Hefearten ein ganz verschiedener ist.

Zum Schluß meiner Betrachtungen will ich nun noch eine vergleichende Tabellenübersicht über die Zahlen geben, welche darlegen, wieviel eine Million Hefezellen Alkohol und Säure hervorgebracht haben, welche also die Arbeitsleistung der einzelnen Zellen in Bezug auf Alkohol- und Säurebildung veranschaulichen.

Eine Million Hefezellen brachten Milligramm Alkohol hervor nach 4 Tagen:

Bei den Hefen	Saaz	Frohberg	Logos	Past. I	Past. II	Past. III	Ell. I	Ell. II	Sacch. cer.
Bei gewöhnlicher Gärung	0,385	0,68	0,41	0,542	1,203	0,74	0,869	1,136	0,776
Bei der Gärung im Kohlensäurestrom	0,357	0,711	0,491	0,278	0,638	0,268	0,698	0,596	0,734

Nach 28 Tagen bezw. nach beendeter Gärung:

Bei den Hefen	Saaz	Frohberg	Logos	Past. I	Past. II	Past. III	Ell. I	Ell. II	Sacch. cer.
Bei gewöhnlicher Gärung	1,66	1,10	0,84	1,301	1,525	1,92	1,302	1,740	1,342
Bei der Gärung im Kohlensäurestrom	1,783	1,443	1,501	1,138	2,050	1,911	1,360	2,553	1,516

Da hierbei hauptsächlich die Arbeitsleistung der einzelnen Zelle nach 28 Tagen in Betracht kommt, so konstatieren wir, daß die einzelne Zelle, konform der vermehrten Zuckerspaltung, auch eine größere Alkoholbildung vollbringt.

Eine Million Hefezellen brachten Kubikcentimeter Säure hervor nach 4 Tagen:

Bei den Hefen	Saaz	Frohberg	Logos	Past. I	Past. II	Past. III	Ell. I	Ell. II	Sacch. cer.
Bei gewöhnlicher Gärung	0,0036	0,0058	0,0036	0,0045	0,0059	0,0035	0,0041	0,0055	0,0042
Bei der Gärung im Kohlensäurestrom	0,0033	0,0050	0,0043	0,0038	0,0061	0,0033	0,0042	0,0056	0,0086

Nach 28 Tagen bezw. nach beendeter Gärung:

Bei den Hefen	Saaz	Frohberg	Logos	Past. I	Past. II	Past. III	Ell. I	Ell. II	Sacch. cer.
Bei gewöhnlicher Gärung	0,0085	0,0055	0,0038	0,0076	0,0065	0,0078	0,0051	0,0066	0,0053
Bei der Gärung im Kohlensäurestrom	0,0090	0,0074	0,0072	0,0064	0,0119	0,0073	0,0049	0,0094	0,0094

Es hat mithin, auch wieder entsprechend dem erhöhten Gärvermögen, die Kohlensäure die Erzeugungsfähigkeit der einzelnen Zelle in Bezug auf Säure gefördert, und zwar bei Saaz und Frohberg nach 28 Tagen, bei Sacch. Ellipsoideus I nach 4 Tagen, bei Logos, Sacch. Pastorianus II, Sacch. Ellipsoideus II und Sacch. cerevisiae nach 4 und 28 Tagen, also in den meisten Fällen.

Aus den vorstehenden Einzeltabellen sind also folgende allgemeine Schlüsse zu ziehen:

1) Die Kohlensäure übt auf das Inversionsvermögen bei den einzelnen Hefearten teilweise einen etwas fördernden, teilweise auch einen etwas hemmenden Einfluß aus.

2) Durch die Kohlensäure wird die Vergärung der Dextrose anscheinend erschwert.

3) Bei der Gärung im Kohlensäurestrom wird weniger Alkohol gebildet, und zwar nicht nur als absolute Quantität, sondern auch im Vergleich zu den vergorenen Rohrzuckermengen.

4) Auch auf die Säurebildung übt die Kohlensäure weder einen ausschließlich fördernden noch einen ausschließlich hemmenden Einfluß aus.

5) Die Vermehrungsenergie der Zellen wird durch die Kohlensäure etwas gehemmt.

6) Ebenso wird das Vermehrungsvermögen — mit zwei Ausnahmen — durch die Kohlensäure gehemmt.

7) Auch die Gärungsenergie wird durch die Kohlensäure gehemmt.

8) Dagegen wird das Gärungsvermögen in fast allen Fällen durch die Kohlensäure bedeutend erhöht.

9) Die einzelne Zelle bildet im Kohlensäurestrom fast durchweg mehr Alkohol als bei gewöhnlicher Gärung.

10) Ebenso wird bei der Gärung im Kohlensäurestrom durch die einzelne Zelle mehr Säure gebildet, als bei der gewöhnlichen Gärung.

Was nun die Hauptfrage anlangt, ob die Kohlensäure einen direkt hemmenden oder fördernden Einfluß auf die Gärung ausübt, so sei es mir gestattet, hier nochmals auf die schon oben erwähnten Ansichten Delbrück's und Hansen's kurz zurückzukommen.

Während Delbrück aus seinen Versuchen den Schluß gezogen hatte, daß die Kohlensäure nicht allein das Hefewachstum beeinträchtigt, sondern auch einen hemmenden Einfluß auf die Gärthätigkeit selbst ausübt, hatte Hansen behauptet, daß die Kohlensäure nicht nur nicht die Gärthätigkeit der Zellen gehemmt, sondern sogar gesteigert habe.

Aus den vorstehenden Tabellen, welche Versuche zur Grundlage haben, die sich von den früher gemachten ganz primitiven sehr wesentlich durch die Genauigkeit ihrer Anordnung und Ausführung unterscheiden, ist nun ersichtlich, daß

11) die Kohlensäure, wenn man den Gesamteffekt ins Auge zieht, anscheinend hemmend auf die Gärung einwirkt, daß jedoch das Gärungsvermögen der Hefezellen, gemäß der von Hansen ausgesprochenen Ansicht, durch die Kohlensäure erhöht wird.

20. Juli 1900.

Studien über die Enzyme im Käse.

Von **Orla Jensen**,
I. Assistenten des bakteriologischen Laboratoriums der schweizerischen landwirtschaftlichen Versuchs- und Untersuchungsanstalten in Bern.

(Fortsetzung.)

Der Einfluß der Milchsäure wird später besprochen werden. Der ursprüngliche Gehalt der nicht mit Säure versetzten Käsemasse an LN giebt annähernd Aufschluß über den Molkengehalt dieser Masse. Im Vergleich mit der soeben untersuchten Käsemasse zeigt nachfolgende, auch aus Magermilch hergestellte, aber bis auf 40° C nach-

gewärmte und deshalb etwas molkenärmere Käsemasse eine weit geringere Selbstverdauungsfähigkeit.

Tabelle V.

Käsemasse 2	Mit 4 $^0/_{00}$ Milchsäure und 1 $^0/_{00}$ Formalin		Mit 1 $^0/_{00}$ Formalin		Mit 15 $^0/_0$ Aether	
35° C	LN	ZN	LN	ZN	LN	ZN
Nach 15 Stunden	5,85	0,75	3,75	0,70	3,72	0,75
„ 2 Wochen	18,30	0,81	9,45	2,64	20,85	4,29
„ 6 „	21,60	1,05	11,70	4,50	38,10	8,70

Man sieht, daß die Käsemasse 2 selbst nach 6 Wochen nicht so viel LN enthält wie die Käsemasse 1 nach 14 Tagen; man muß daraus schließen, daß die Galaktase, ebenso wie Storch es für das Milchfibrin gezeigt hat, in der Milch in gelöster Form vorhanden ist und deshalb beim Verkäsen hauptsächlich in die Molken übergeht. Je molkenreicher ein Käse ist, desto mehr Galaktase enthält er deshalb von Anfang an, d. h. Weichkäse sind von Anfang an reicher an Galaktase als Hartkäse. Wie wir später sehen werden, entstehen in einer frischen Käsemasse sehr schnell Bakterienenzyme; die relativ große Vermehrung des ZN in der Käsemasse 2 zeigt, daß solche schon gebildet waren, was daher rührt, daß diese Käsemasse erst 6 Stunden nach ihrer Herstellung in Behandlung genommen werden konnte.

Da Emmenthalerkäse infolge seiner Herstellungsweise einer der molkenärmsten Käse ist, muß er von Anfang an auch nur wenig Galaktase enthalten. Nachfolgender Versuch mit einer aus Vollmilch nach Emmenthalerart verkästen Masse (3) bestätigt die Richtigkeit dieser Annahme:

Tabelle VI.

Käsemasse 3, 35° C	LN	ZN
Nach 15 Stunden mit 1 $^0/_{00}$ Formalin	3,50	0,37
Nach 14 Tagen mit 1 $^0/_{00}$ Formalin	4,98	0,37
Nach 14 Tagen mit 25-proz. Aether	16,77	0,92

Die relativ geringe Vermehrung des LN dieser Käsemasse kann nur daher rühren, daß sie wenig Molken und damit wenig Galaktase enthält, und nicht daher, daß dieses Enzym etwa durch die für die Emmenthalerkäse übliche Fabrikationsweise abgeschwächt worden wäre, denn, wie in oben citierter Arbeit v. Freudenreich mitgeteilt hat, habe ich nachgewiesen, daß die Galaktase durch ein halbstündiges Erwärmen auf 60° C nicht merkbar abgeschwächt, wohl aber durch eine halbstündige Erwärmung zwischen 75—80° C zerstört wird. Um die Galaktase in der Käsemasse vollständig zu zerstören, muß man diese $^1/_2$ Stunde lang mit Wasser zwischen 80—85° C erwärmen. Frische Käsemasse, die nur zwischen 75—80° C erwärmt worden ist, zeigt, wie ich mich überzeugen konnte, zwar mit Formalin keine Selbstverdauungsfähigkeit mehr, wohl aber noch mit Aether. Es scheinen also die Bruchteile eine schützende Wirkung auszuüben.

Entfettet man die frische Käsemasse, so wird, wie die Tabelle VII zeigt, die Galaktase etwas abgeschwächt. Tabelle VIII zeigt, daß solche entfettete Käsemasse gegenüber der Formalin-Aetherprobe sich in gleicher Weise verhält wie die nicht entfettete Käsemasse.

Tabelle VII.

Käsemasse 4	Nicht entfettet mit 4 $^0/_{00}$ Milchsäure	Nicht entfettet	Entfettet
35° C 1 $^0/_{00}$ Formalin	LN	LN	LN
Nach 15 Stunden	15,45	7,31	6,16
Nach 10 Tagen	21,31	11,07	7,97

Tabelle VIII.

Käsemasse 5 entfettet	$^1/_2$ Std. auf 95° C erwärmt m. 2 $^0/_{00}$ Milchs. u. 1 $^0/_{00}$ Form.	Mit 1 $^0/_{00}$ Formalin		Mit 15-proz. Aether	
35° C	LN	LN	ZN	LN	ZN
Nach 15 Stunden	5,78	4,70	0,59	4,65	0,59
Nach 14 Tagen	6,26	10.23	1,34	24,96	1,71

Da wir später die Selbstverdauungsfähigkeit mehrerer Emmenthaler Käse in entfettetem Zustande unter Zusatz von 1 $^0/_{00}$ Formalin bei 35° C untersuchen werden, ist es jetzt von Bedeutung, zu sehen, wie frische, nach Emmenthalerart bereitete Käsemasse sich unter den gleichen Bedingungen verhält. Die nachfolgende Tabelle giebt 3 Beispiele hiervon:

Tabelle IX.

Käsemasse entfettet	6		7		8	
35° C 1 $^0/_{00}$ Formalin	LN	ZN	LN	ZN	LN	ZN
Nach 15 Tagen	5,50	1,02	4,03	0,88	3,57	0,76
Nach 6 Tagen	6,93	1,02	5,25	1,05	5,80	0,76

Man sieht, daß ebenso wie in der nicht entfetteten, nach Emmenthalerart bereiteten Käsemasse 3 (Tabelle VI) die Vermehrung des LN äußerst gering ist, und daß von einer Vermehrung des ZN gar keine Rede ist.

In der mehrmals citierten Arbeit v. Freudenreich's ist nachgewiesen, daß in der Milch die Galaktase durch Milchsäure geschwächt wird. In scheinbarem Gegensatze hierzu weisen die Käsemassen 1, 2 und 4 (Tabellen IV, V und VII) eine weit höhere Selbstverdauungsfähigkeit auf, wenn man den Kolben 2 oder 4 $^0/_{00}$ Milchsäure zusetzt. Daß diese Milchsäure selbst das Caseïn auflösen könnte, wäre gar nicht unwahrscheinlich; aber höchst merkwürdig wäre es, wenn diese Auflösung mit der Zeit immer weiter gehen würde, so wie es der Fall mit der Käsemasse 2 ist. Wenn die vermehrte Auflösung des Caseïns nur der Milchsäure selbst zu verdanken wäre, so müßte

spielen, und dazu ist es auch unmöglich, eine Käsemasse vollständig zu entfetten, ohne daß ein Teil des Fettes sich während dieses langen Prozesses zersetzt. Die beste Methode, die Menge der in Wasser löslichen freien Säuren eines Käses zu ermitteln, ist nach meiner Ansicht, sie als Differenz zwischen der Acidität des Käses vor und nach dem Entfetten zu berechnen. Auf diese Weise bekommt man immer niedrigere Zahlen als die, welche man direkt aus dem Aetherextrakte finden kann. Da Milchsäure und Buttersäure fast das gleiche Molekulargewicht haben, macht es keinen großen Unterschied, ob man die freien Säuren im Käse als die eine oder die andere dieser Säuren berechnet; in der nachfolgenden Tabelle sind sie als Milchsäure berechnet, weil anzunehmen ist, daß diese Säure in jungen Käsen in größerer Menge als Buttersäure vorhanden ist.

Tabelle XII.

Freie Milchsäure in pro mille vom Käse ausgedrückt	Im Aetherextrakt gefunden	Nach der Differenzmethode berechnet
Die innere Masse des 9 Tage alten Limburgerkäses 9	8,1	6,6
Die äußeren Schichten des 1 Monat alten Romadurkäses 7	5,2	4,5
Der 14 Tage alte Emmenthaler Käse 10	3,9	3,2

Bei den speziellen Studien über die Enzyme im Käse werden wir Gelegenheit haben, auf die vorstehenden Zahlen zurückzukommen; vorläufig will ich nur hervorheben, daß die Tabelle XII zeigt, daß junge Käse, besonders Weichkäse, genug freie Säure enthalten, um die Galaktase abschwächen zu können und das Pepsin in Wirksamkeit treten zu lassen. Man sieht, daß der nur 9 Tage alte Limburgerkäse fast so viel freie Milchsäure enthält, wie die Milchsäurefermente überhaupt bei Zimmertemperatur erzeugen können. In Uebereinstimmung hiermit geht es auch lange, bis der Milchzucker in einem Limburgerkäse verschwunden ist; so giebt ein 14 Tage alter Limburgerkäse noch eine deutliche Zuckerreaktion, währenddem ein Emmenthalerkäse, wie Schaffer und ich gezeigt haben, wenige Tage nach seiner Herstellung keine Spuren von Milchzucker mehr enthält. Die Bedingung für eine schnelle Vergärung des Milchzuckers ist nämlich, daß die daraus gebildete Milchsäure zum größten Teil gleich neutralisiert wird, sonst können die Milchsäurefermente ihre Thätigkeit nicht fortsetzen. Dieses Neutralisieren der freien Milchsäure geschieht natürlicherweise am schnellsten in den Käsen, in welchen die ursprüngliche Milchzuckermenge im Vergleich mit den anderen Trockensubstanzen am kleinsten ist. Nachfolgendes Beispiel genügt, um zu zeigen, daß frische Käsemasse wirklich Säure binden kann. Von der gleichen frischen Käsemasse im getrockneten und entfetteten Zustande wurden 2mal 15 g abgewogen und in Kolben gebracht, der eine Teil wurde mit 100 ccm Wasser, der andere Teil mit 100 ccm einer etwa 4 ‰-haltigen Milchsäurelösung versetzt. Beide Kolben wurden 1 ‰ Formalin zugesetzt, worauf sie 8 Tage gut verschlossen aufbewahrt wurden, um stattfindenden Diffusionsprozessen die nötige Zeit zu lassen. Nach dieser Zeit

brauchten 25 ccm des mit Wasser zubereiteten Extraktes (mit Phenophthaleïn als Indikator) 1,7 ccm $\frac{n}{10}$ Lauge, um neutralisiert zu werden; 25 ccm der verwendeten 4 $^0/_{00}$-haltigen Milchsäurelösung brauchten zur Neutralisation 12,2 ccm $\frac{n}{10}$ Lauge; es wäre also zu erwarten gewesen, daß 25 ccm des mit dieser Milchsäurelösung bereiteten Extraktes 1,7 + 12,2 = 13,9 ccm $\frac{n}{10}$ Lauge zur Neutralisation erfordert hätten, aber sie brauchten nur 8,8 ccm, 5,1 $\times$ 4 = 20,4 ccm $\frac{n}{10}$ Milchsäure, d. h. 0,1836 g. Milchsäure war also von den 15 g Käsemasse gebunden worden. Mehrere ähnliche Versuche wurden vorgenommen, und alle zeigten, daß frische Käsemasse imstande ist, Säure zu binden, und zwar um so mehr, je konzentrierter die Säure ist.

In der Milch sollen nach Kabrhel[1]) das Caseïn und nach Timpe[2]) sowohl das Caseïn als auch die Phosphate Milchsäure binden können. In gleicher Weise ist wohl auch die nachgewiesene Säurebindung in der Käsemasse zu erklären. Daß die Aschenbestandteile eines Käses wirklich Milchsäure binden, findet eine Bestätigung in dem Umstande, daß sie in der ersten Zeit nach der Herstellung des Käses löslicher werden. In den späteren Stadien der Käsereifung nimmt die Menge der löslichen Asche wieder ab, entweder diffundiert sie aus und wird weggewaschen, wie Benecke und Schulze es gemeint haben, oder wird, was ich jetzt für wahrscheinlicher halte, durch Einwirkung von Ammoniak und anderen basischen Eiweißzersetzungsprodukten wieder unlöslich. Diese Verhältnisse gehen aus nachfolgenden von mir gefundenen Zahlen deutlich hervor, welche die lösliche kochsalzfreie Asche verschiedener Käse in Prozenten der gesamten kochsalzfreien Asche angeben.

Frische Käsemasse nach Emmenthalerart bereitet		29
Die gleiche Käsemasse mit 4 $^0/_{00}$ Milchsäure extrahiert		96
Durchschnitt vieler Analysen von	2 Monate alten Emmenthalerkäsen	60
	4 Monaten alten Emmenthalerkäsen	50
	vollreifen Emmenthalerkäsen	37
Die innere Masse eines 7 Tage alten Romadurkäses		76
Die innere Masse eines 1 Monat alten Romadurkäses		51

Für die Weichkäse spielt die Fähigkeit der Käsemasse, Säure binden zu können, nur eine untergeordnete Rolle, weil die Milchsäuremenge in diesen Käsen wegen des ursprünglichen großen Milchzuckergehaltes so groß wird, daß sie nur, wie wir später speziell für Backsteinkäse sehen werden, durch eine von der Oberfläche ausgehende Ammoniakbildung abgestumpft werden kann. Für die Hartkäse dagegen ist diese Säurebildung von allergrößter Bedeutung, weil aus diesem Grunde die Menge der freien Säure im Hartkäse nie groß genug wird, um die Entwickelung der Milchsäurefermente zu verhindern[3]), und diese Fermente dann selbst die Säuremenge so weit

1) Allgem. Wiener med. Ztg. 1889 No. 52 u. 53.
2) Archiv für Hygiene. 1893.
3) Eine Ausnahme tritt ein, wenn die verwendete Milch schon sauer war, da in

vermindern können, daß es ihnen ermöglicht wird, ihre proteolytischen Enzyme in Wirksamkeit treten zu lassen. Ich möchte in dieser Hinsicht an die interessante Beobachtung von Kayser[1]) erinnern, daß gewisse Milchsäurefermente imstande sind, milchsauren Kalk in kohlensauren Kalk umzubilden. Wenn dies auch im Käse der Fall wäre, so würde der gebildete $CaCO_3$ wieder neue Milchsäure binden können u. s. w., bis keine Milchsäure mehr vorhanden wäre, und die durch diese Bindung freigewordene CO_2 könnte zu der normalen Lochbildung beitragen. Ich stelle indessen dieses nur als eine Hypothese auf. Wie die letzten Reste der freien Milchsäure in einem Hartkäse abgestumpft werden, weiß ich nicht, aber in einem Emmenthalerkäse jedenfalls werden sie fast vollständig abgestumpft, denn die nicht entfettete und die entfettete Masse eines solchen Käses zeigen zur Zeit der Hauptgärung fast die gleiche Acidität. Aus den bisherigen Untersuchungen können wir folgendes schließen:

1) Nach der für die gewöhnlichen Labkäsesorten üblichen Herstellungsweise gehen die Galaktase der Milch und das Pepsin des Labes in die frische Masse über, und zwar in solchen Mengen, die genügend wären, Umbildungen des Caseïns hervorzurufen.

2) Die Weichkäse sind von Anfang an reicher an diesen Enzymen als die Hartkäse.

3) In den Weichkäsen ist in der ersten Zeit nach der Herstellung die Menge der freien Milchsäure so groß, daß dadurch die Galaktasewirkung gehemmt und die Pepsinwirkung begünstigt wird. In den Hartkäsen dagegen wird die vorhandene Säuremenge die Pepsinwirkung auf Kosten der Galaktasewirkung nur in geringerem Grade begünstigen können.

Wir haben nun zu untersuchen, ob diese 2 Enzyme wirklich eine praktische Rolle bei der Käsereifung spielen, und fangen mit den Weichkäsen an.

Die Enzyme der Backsteinkäse.

Die Weichkäse kann man nach meiner Ansicht in 3 Hauptgruppen einteilen:

1) Weichkäse, die hauptsächlich von außen, ohne Mitwirkung von Schimmelpilzen reifen (geschmierte Käse, wie die nach Limburgerart gemachten Backsteinkäse).

2) Weichkäse, die hauptsächlich von außen, unter Mitwirkung von Schimmelpilzen reifen (nicht geschmierte Käse, wie Brie, Camembert und überhaupt die meisten Weichkäse).

3) Weichkäse, die ungleichmäßig durch die ganze Masse und zwar immer unter Mitwirkung von den im im Inneren enthaltenen Schimmelpilzen reifen (Roquefort, Gorgonzola u. dergl. m.). Diese letzte Gruppe bildet den Uebergang zwischen Weichkäsen und Hartkäsen.

---

diesem Falle die Aschebestandteile und das Caseïn von vornherein mit Säure gesättigt sind und deshalb im Käse dieselbe nicht mehr binden können.

1) Annales de l'Institut Pasteur. 1894. p. 737.

Von diesen verschiedenen Weichkäsen habe ich für diese Arbeit die Backsteinkäse gewählt, weil sie in chemischer Hinsicht den ausgeprägtesten Charakter haben. Wie nachfolgende Tabelle zeigt, werden die Backsteinkäse mit der Zeit fast vollständig löslich in Wasser[1]), aber unter Bildung von nur sehr wenig ammoniakfreien Zersetzungsprodukten. Dieses Merkmal der Backsteinkäsereifung ist von Bondzynski schon hervorgehoben worden[2]), da aber dieser Forscher keine Ammoniakbestimmungen im Käse vorgenommen hat, ist es ihm entgangen, daß ein gereifter Backsteinkäse sich durch einen relativ großen Ammoniakgehalt auszeichnet.

Tabelle XIII.

15 Stunden bei Zimmertemp. extrahiert. 1 ‰ Formalin	LN	ZN	AN	Acidität	Bemerkungen
Gereifter Romadurkäse 1 (Allgäu)	92,47	4,66	9,65	16	Reagiert sauer mit Lakmuspapier
Gereifter Romadurkäse 2 (Limburg)	99,82	4,33	11,97	5	Reagiert alkalisch mit Lakmuspapier

Ein ferneres Merkmal der Backsteinkäsereifung besteht in einer starken Buttersäurebildung, welche zum größten Teil, wie Weigmann und Backe[3]) gezeigt haben, von einer Zersetzung der Fettstoffe herrührt. Der scharfe Geruch und Geschmack eines Backsteinkäses verdankt wohl hauptsächlich der Buttersäure und dem Ammoniak seine Entstehung, von welchen auch die Reaktion des Käses abhängen wird. Die in einem Backsteinkäse enthaltenen löslichen Proteïnstoffe sind nur wenig umgebildet, denn große Mengen derselben werden durch Erwärmen oder von schwachen Säuren ausgefällt. Durch die vereinigte Wirkung dieser beiden Faktoren kann man sogar die Hauptmenge ausfällen. So zeigte Romadurkäse 2 mit 1 ‰ Essigsäure bis auf 95° C erwärmt nur 24,88 Proz. LN.

Unter den Backsteinkäsen habe ich mich nur mit den Limburgerkäsen und Romadurkäsen beschäftigt. Diese 2 Käsesorten werden heutzutage auf die gleiche Weise zubereitet, nur sind erstere etwas größer als letztere. Mit Ausnahme zweier auf der Molkereischule Rütti hergestellter ganz junger Limburgerkäse rührte mein ganzes Untersuchungsmaterial aus den Hauptproduktionsorten der Backsteinkäse, der belgischen Provinz Limburg und dem Bayerischen Allgäu, her, und ich möchte hier die Gelegenheit benutzen, dem Herrn Käsefabrikanten Alphonse Pirenne in Aubel und dem Herrn Xaver Lerpscher, Verwalter der Centrallehrsennerei in Weiler, für die dem Laboratorium erwiesene Freundlichkeit meinen besten Dank auszusprechen.

Um gleich eine Uebersicht über den Reifungsvorgang bei den Backsteinkäsen zu gewinnen, gebe ich in folgender Tabelle die Re-

1) Die äußerste braune Schicht der Backsteinkäse, welche bei diesen 2 Analysen entfernt wurde, enthält immer viele unlösliche stickstoffhaltige Körper (Mikroorganismen).
2) Landw. Jahrb. der Schweiz. 1894. p. 189.
3) Die landwirtschaftlichen Versuchsstationen. 1898.

sultate der Untersuchungen dreier Allgäuer Romadurkäse an. Dieselben waren verschieden alt und wurden sowohl in den äußeren Schichten als auch in der inneren scheinbar unveränderten Masse auf Enzyme geprüft. Um eine Durchschnittsprobe der äußeren Schichten eines Backsteinkäses, nämlich der braunen „Schmiere“ und der darunter liegenden durchscheinenden „Speckschicht“ zu erhalten, wurde die ganze Oberfläche des Käses abgetrennt und in einer Reibschale verrieben, bis man eine ganz homogene Masse hatte. Eine Durchschnittsprobe von der inneren weißen undurchsichtigen Masse, dem „Kern“, liefert am besten ein Querschnitt des abgeschälten Käses, nachdem man noch sorgfältig die etwas durchscheinende Randpartie weggeschnitten hat.

Tabelle XIV.

Romadurkäse 3, 1 Woche alt	Schmiere + Speckschicht				Kern			
35° C. 1 ‰ Formalin	LN	ZN	AN	Acidität	LN	ZN	AN	Acidität
Nach 15 Stunden	12,81	1,26	0,39	12	8,99	0,87	0,18	12
Nach 10 Tagen	37,95	7,45		19	15,15	3,08		12
Romadurkäse 4, 4 Wochen alt								
Nach 15 Stunden	52,93	9,88	3,87	11	13,34	3,39	3,50	10
Nach 10 Tagen	70,82	40,73	8,87		18,85	5,63		
Romadurkäse 5, 6 Wochen alt								
Nach 15 Stunden	55,10	12,58	4,51	16	24,82	5,27	4,37	6
Nach 6 Tagen	76,80	43,58	7,55	24	32,27	9,31	4,77	8

Der erste dieser Käse, welcher nur 7 Tage alt war und eben fertig gesalzen worden war, besaß natürlicherweise noch keine eigentliche Speckschicht, war aber doch deutlich schmierig an der Oberfläche. Die Tabelle zeigt, daß die Umbildungen hier schon weiter vorgeschritten waren als im Innern des Käses, weil an der Oberfläche viel kräftigere Enzyme als im Innern vorhanden waren. Die 2 folgenden Käse, welche schon eine ziemlich breite Speckschicht hatten, verhielten sich gleich, aber in noch ausgesprochenerem Maße. Aus vorstehender Tabelle geht ferner hervor, daß die Enzyme an der Oberfläche sich dadurch auszeichnen, daß sie bei 35° C sehr viele Zersetzungsprodukte und etwas Ammoniak bilden. Trotz der Bildung des letzteren nimmt die Acidität an der Oberfläche eines Backsteinkäses nicht ab, weil gleichzeitig freie Fettsäuren gebildet werden. Diese Säurebildung schreitet während der in den Kolben stattfindenden Selbstverdauung weiter, wie sich aus der Vermehrung der Acidität, welche bedeutend höher als gewöhnlich ist, ergiebt. Wie ich später zeigen werde, rührt diese Säurebildung von einem (vielleicht fettspaltenden) Enzym her. Im Innern eines Backsteinkäses nimmt dagegen, wie die Tabelle zeigt, die Acidität mit der Zeit ab, und zwar wegen der Vermehrung der Ammoniakmenge.

Diese konstante Abnahme der Acidität findet jedoch nur so lange statt, bis die Zersetzung der Fettstoffe auch im Innern anfängt.

Da es von größtem Interesse ist zu wissen, ob in den äußeren Schichten eines Backsteinkäses thätigen Enzyme besonders in der Schmiere oder in der Speckschicht zu finden sind, habe ich bei einem 4 Wochen alten Allgäuer Romadurkäse diese 2 Schichten wie auch den Kern getrennt untersucht.

Tabelle XV.

Romadurkäse 6, 4 Wochen alt	Schmiere				Speckschicht				Kern			
35° C. 1 ‰ Formalin	LN	ZN	AN	Acidität	LN	ZN	AN	Acidität	LN	ZN	AN	Acidität
Nach 15 Stunden	39,03	12,01	3,71	15	46,26	4,59	3,39	14	9,54	4,87	3,81	7
Nach 10 Tagen	70,22	44,03	9,01	29	53,98	10,47	3,58	17	20,01	6,78	3,92	11

Diese Tabelle zeigt deutlich, daß die Enzyme der äußeren Schichten eines Backsteinkäses in der Schmiere gebildet werden, d. h. daß man hauptsächlich dort die Kräfte vorfindet, welche imstande sind, das Caseïn bei 35° C zu zersetzen. Besonders hat es den Anschein, daß das Ammoniak ausschließlich an der Oberfläche gebildet wird. Da die innere Masse eines Backsteinkäses in den späteren Reifungsstadien jedoch weniger sauer als die äußeren Schichten wird, so folgt daraus, daß Ammoniak auch im Innern gebildet werden muß, denn im freien Zustande kann es nicht durch eine sauere Masse diffundieren. Daß indessen meine Versuche eine Ammoniakbildung nur an der Oberfläche eines Backsteinkäses aufweisen, läßt sich dadurch erklären, daß nur hier die für die Ammoniakbildung nötigen Zersetzungsprodukte (Zwischenstufen) gebildet werden; diese diffundieren dann zum Teil als solche in das Innere hinein und werden von den hier anwesenden Bakterien allmählich weiter zersetzt. Eine mikroskopische Untersuchung der Schmiere eines Backsteinkäses zeigt, daß sie fast ausschließlich aus (unlöslichen) Hefe- und Bakterienzellen besteht, und daher rührt es, daß sie, wie vorstehende Tabelle zeigt, nicht so viel LN wie die darunter liegende Speckschicht enthält. Da die für die Reifung der Backsteinkäse nötigen Enzyme in der Schmiere gebildet werden, so ist die Erzeugung dieser Schmiere, ihre gleichmäßige Verteilung und Verhütung des Austrocknens die Hauptsache bei der ganzen Backsteinkäsefabrikation. Um das Austrocknen der Schmiere zu vermeiden, werden die Käse bei einer relativ niedrigen Temperatur gehalten und häufig mit der Hand oder einem nassen Tuch „geschmiert". Dieser letzte Prozeß verhindert gleichzeitig jede Schimmelbildung.

Die 2 Tabellen XIV und XV geben jedoch ein ganz unrichtiges Bild der wirklichen Menge der Zersetzungsprodukte in der Schmiere eines Backsteinkäses, indem die Bildung dieser Stoffe bei 35° C so schnell vor sich geht, daß die Menge derselben schon nach 15 Stunden (die von Bondzynski vorgeschlagene Extraktionszeit für Käse) auf das Doppelte anwachsen kann. Erwärmt man die Schmiere in

kochendem Wasser gleich nachdem sie mit Wasser zerrieben worden ist, so zeigt es sich, daß sie nur wenig mehr Zersetzungsprodukte als die innere Masse desselben Käses enthält.

Lassen wir die Selbstverdauung der äußeren Schichten eines Backsteinkäses bei Zimmertemperatur statt bei 35 ° C vor sich gehen, so kommen wir den natürlichen Reifungsverhältnissen näher und dementsprechend entstehen auch bedeutend weniger Zersetzungsprodukte [1]), aber doch ebensoviel lösliche Proteïnstoffe. Die folgende Tabelle zeigt diese Verhältnisse für 2 Romadurkäse, der eine aus der Provinz Limburg und der andere aus dem Algäu:

Tabelle XVI.

Schmiere + Speckschicht	35° C. 1 °/₀₀ Formalin				Zimmertemperatur, 1 °/₀₀ Formalin			
vom Romadurkäse 7, 4 Wochen alt (Limburg)	LN	ZN	AN	Acidität	LN	ZN	AN	Acidität
Nach 15 Stunden	43,64	6,82	1,36	13	39,94	4,68	1,27	13
Nach 14 Tagen	61,95	31,56	3,51	23	63,32	19,09	2,34	24
vom Romadurkäse 5, 6 Wochen alt (Allgäu)								
Nach 15 Stunden	55,10	12,58	4,51	16	54,30	6,40	3,18	16
Nach 6 Tagen	76,80	43,58	7,55	24	70,47	6,72	5,89	26

Diese Tabelle zeigt ferner, daß die Ammoniak- und Säurebildung auch bei Zimmertemperatur stattfindet, die erstere etwas langsamer und die letztere deshalb scheinbar etwas schneller als bei 35 ° C.

Da in den Versuchskolben 10 g Käsemasse bis auf 250 ccm mit Wasser verdünnt werden, so kommt hier die eigentliche Acidität des Käses gar nicht zur Geltung. Um bei den ziemlich saueren Backsteinkäsen die Selbstverdauung unter natürlicheren Bedingungen vor sich gehen zu lassen, muß man dem Kolben eine passende Menge Säure (Milchsäure oder Buttersäure) zusetzen.

1) Daß die Vermehrung des ZN bei Zimmertemperatur im Käse 7 viel größer als im Käse 5 ist, rührt wohl von der längeren Extraktionszeit und möglicherweise auch von Schwankungen in der Zimmertemperatur her.

(Fortsetzung folgt.)

Ueber den Kumysbacillus[1].

[Aus dem Laboratorium an der therapeutischen Klinik des Herrn Prof. S. S. Botkin in St. Petersburg.]

Von Dr. med. **D. Schipin** in Barnaul, Gouv. Tomsk.

Im vorigen Jahre ist es mir gelungen, den Kumysbacillus in Reinkultur zu erhalten.

Bekanntlich kommen im Kumys, wie die Untersuchungen verschiedener Autoren, welche sich mit dem Studium der Bakteriologie des Kumys beschäftigten, ergeben haben, konstant 3 Arten von Mikroorganismen vor, und zwar Saccharomyces, Bac. acidi lactici und der Kumysbacillus. Die beiden erstgenannten Mikroorganismen sind bereits soweit bekannt, daß sowohl über deren Stellung in der Reihe anderer Bakterien, aber auch über deren Bedeutung für die Kumysbildung ein ziemlich bestimmtes Urteil gefällt werden kann. Der dritte Organismus dagegen, der sogenannte Kumysbacillus, blieb wenig untersucht, und dessen Rolle bei der Kumysbildung erschien vollständig unbestimmt, hauptsächlich aus dem Grunde, weil es bis zur letzten Zeit nicht gelungen war, denselben zu züchten. Da der betreffende Bacillus bei der mikroskopischen Untersuchung des Kumys massenhaft vorgefunden wird, so mußte demselben begreiflicherweise eine gewisse Bedeutung für die Kumysgärung beigelegt werden. Während aber von einigen Autoren demselben nur die Fähigkeit, Eiweißkörper zu peptonisieren, zugeschrieben wurde, waren andere der Meinung, daß derselbe bloß die vegetative Form des Bac. acidi lactici darstelle; noch andere wiederum vertraten die Ansicht, daß es sich um einen selbständigen Mikroorganismus, der bei der Kumysbildung eine wichtige Rolle spiele, handeln müsse.

Mittels Kulturmethoden auf Nährmedien wurde der Kumysbacillus nur von 2 Autoren, Grigorieff und Goluboff, studiert. Ersterer machte Kulturversuche ausschließlich, letzterer fast ausschließlich bei freiem Sauerstoffzutritte. In der Arbeit von Goluboff findet sich keine Angabe darüber, welche Methoden von ihm zur Kultivierung dieses Bacillus bei Sauerstoffausschluß benutzt wurden, seine Versuche fielen jedoch negativ aus.

Herr Prof. S. Botkin, auf dessen Veranlassung ich mich mit der Kultivierung des Kumysbacillus beschäftigte, empfahl, zu diesem Zwecke konsequent Methoden der Anaërobiose anzuwenden, einerseits, weil die früheren diesbezüglichen Versuche als ungenügend gelten müssen, andererseits in Anbetracht dessen, daß der betreffende Bacillus unter gewöhnlichen Umständen bei mehr oder weniger vollständigem Sauerstoffausschlusse wachse, was namentlich im sogenannten Flaschenkumys der Fall ist.

Um die Frage zu entscheiden, ob der betreffende Bacillus zu

1) Vergl. auch meine Inaug.-Diss. „Zur Bakteriologie des Kumys". St. Petersburg 1899.

seinem erfolgreichen Wachstume in der That Ausschluß von freiem Sauerstoffe verlange, benutzte ich die einfachste Methode, und zwar die von Liborius, i. e. Kulturversuche in hochgeschichteten festen Nährmedien.

Schon bei den ersten Stich- und Mischkulturen (auf Gelatine) erhielt ich neben den bekannten Kolonieen der beiden anderen Arten mehrere Kolonieen, die ein eigentümliches Aussehen darboten. Diese Kolonieen von weißlicher Färbung bestanden aus einem centralen Körper und zahlreichen von demselben nach allen Richtungen ausgehenden Fortsätzen. In den ersten Entwickelungsstadien hatten dieselben das Aussehen einer kleinen, inmitten des Spinngewebes sitzenden Spinne, in den späteren dagegen, nachdem der centrale Körper schneller als die Fortsätze im Wachstume vorgeschritten war, glichen dieselben einem kleinem Moosstückchen.

In Reinkulturen, besonders mittels Stiches, konnte man sich leicht überzeugen, daß der Bacillus in den oberen Schichten der Nährmedien bedeutend schwächer als in den tieferen wächst; auf der Oberfläche war überhaupt kein Wachstum bemerkbar. Durch eine Reihe von Versuchen (Züchtungen bei Zutritt bezw. Ausschluß von freiem Sauerstoffe) kam ich zu dem Schlusse, daß freier Sauerstoff das Wachstum des betreffenden Bacillus hemmt, und zwar dermaßen, daß man denselben zu den wahren, jedoch nicht streng obligaten Anaëroben, resp. zu den Anaëroben der ersten Klasse von Beijerinck[1]) rechnen müsse.

Es gelang, denselben in H-Atmosphäre zu züchten, während in CO_2-Atmosphäre kein Wachstum stattfand.

Der Kumysbacillus gedeiht am besten auf saurer und Zuckergelatine, obgleich derselbe auch auf gewöhnlicher und alkalischer Gelatine ziemlich gut wächst. Die Gelatine wird nicht verflüssigt. Auf Agar dagegen, sogar auf Zucker- und Glycerinagar, ist das Wachstum ein schwaches, auf Blutserum ein mäßiges. In Bouillon, bei freiem Sauerstoffzutritte, findet kein merkbares Wachstum statt. Kuhmilch blieb bei gewöhnlicher Temperatur ungeronnen (während 18 Tagen), bei höherer dagegen (37° C) gerann dieselbe in Form eines dicken Breies und ohne merkbare Ausscheidung von Molke (in beiden Fällen bei freiem Sauerstoffzutritte).

Das Temperaturoptimum liegt zwischen 20 und 30° C. Bei 0° erleidet der Bacillus keinen merkbaren Schaden, obgleich während 14 Tagen unter dieser Temperatur kein Wachstum beobachtet wurde. Bei 57° C wird derselbe nach $^1/_2$ Stunde, bei 60° C nach 10 Minuten getötet.

Der Bacillus entwickelt Gase, welche in Gelatine und Blutserum sich durch Bildung von Höhlen bemerkbar machen. Bei Züchtung in Stutenmilch wurde CO_2 nachgewiesen; Untersuchungen auf H_2S ergaben ein negatives Resultat.

Sporenbildung wurde nicht beobachtet. Färbung mittels Anilinfarben gelingt sehr leicht; auf Gram tritt keine Entfärbung ein.

---

1) Beijerinck, Centralbl. f. Bakt. etc. 2. Abt. Bd. I. 1895. p. 109.

Nach Litteraturangaben muß geschlossen werden, daß der Kumysbacillus bis jetzt nur im Kumys vorgefunden wurde.

In der Absicht, die Rolle des Kumysbacillus bei der Kumysbildung festzustellen, unternahm ich noch eine Reihe von Gärungsversuchen an Stutenmilch, wobei ich Reinkulturen der 3 Kumysbakterien sowohl einzeln, als auch in Kombinationen zu je zweien und allen dreien zusammen benutzte. Auf Grund solcher Versuche kam ich zu dem Schlusse, daß der Kumysbacillus Milchzucker zersetzt, indem er Milchsäure- und Alkoholgärung hervorruft, sowie auch daß er die Fähigkeit besitzt, Eiweiß zu peptonisieren. Ferner ergaben meine Versuche, daß der betreffende Bacillus die Hauptrolle bei der Kumysgärung spielt, seine Wirkung jedoch erst dann zu stande kommt, nachdem durch die Thätigkeit des Bac. acidi lactici und des Saccharomyces günstige Bedingungen für dessen Entwickelung vorbereitet wurden.

Referate.

Schmidt-Nielsen, Sigval, Kemiske og mikrobiologiske Undersögelser over Saltning of Sild. I. (Aarsberetning fra Trondhjems Fiskeriselskab for 1899—1900. Trondhjem 1900.)

Die durch das Pökeln eintretenden Veränderungen des Heringsfleisches scheinen jedenfalls teilweise von Mikroorganismen verursacht zu sein. Die vom Verf. untersuchten norwegischen Heringslaken sind fast salzgesättigte Lösungen von ziemlich konstanter Konzentration und spezifischem Gewicht von 1,21. Außer den gewöhnlichen Fischbestandteilen enthalten sie eine nach dem Alter der Lake von 1,6 bis 2,1 ‰ variierende P_2O_5-Menge, wahrscheinlich in organischer Verbindung, die aus dem Hering herausdiffundiert ist. Außerdem eine Reihe von Stickstoffverbindungen, sowohl Eiweißkörper wie namentlich Amidkörper, welche letztere Gruppe mehr wie $^3/_4$ der ganzen Stickstoffmenge der Lake repräsentiert. Der totale N-Gehalt schwankte von 3,0 ‰ bei einer 14-tägigen Lake bis 12 ‰ N bei einer von 5-jährigem Alter. Die älteren Laken, die den längere Zeit gestandenen Fustagen entstammen, zeigen eine mit dem Alter zunehmende tiefe Farbe, die zuletzt dunkelportweinrot wird. Die spektroskopische Untersuchung zeigte die völlige Abwesenheit von Blutfarbstoff oder dessen nächsten Derivaten; der betreffende Farbstoff mag wohl ein von Bakterien gebildetes Spaltungsprodukt von Eiweißsubstanz sein. Salpetersäure und salpetrige Säure wurde in der Heringslake nie nachgewiesen, dagegen tritt Pepton auf und die Flüssigkeit zeigt dann Tryptophanreaktion.

Bei direkter mikroskopischer Untersuchung einer Reihe von norwegischen Heringslaken wurden ausschließlich Bakterien nachgewiesen. Durch Kulturversuche wurde aber in beinahe allen Proben auch eine geringe Anzahl von gewöhnlichen Schimmelpilzen gefunden, dagegen konnten weder mittels direkter Beobachtung noch durch Kul-

turen die von Wehmer in holländischer Heringslake gefundenen Hefen nachgewiesen werden.

Als Nährsubstrat für die Kultur der Organismen wurde erst eine Seewasser-Fischgelatine benutzt, sonst aber die 10-proz. Fleischwasserpeptongelatine von Salomonsen, welche dieselben Resultate zeigte wie jene. Es ergab sich bei den Bakterienzählungen, daß der Bakteriengehalt der Heringslake bald nach dem Einsalzen seinen Maximalwert hat, um mit dem Alter der Lake abzunehmen. Während man z. B. in den ersten Tagen nach dem Einsalzen pro Kubikcentimeter Lake von einigen Hunderttausenden bis über eine Million keimfähige Organismen zählen konnte, sinkt die entsprechende Zahl in Laken von monatlichem und noch höherem Alter gewöhnlich von einigen Tausend auf einige Hundert. Selbst sehr alte Heringslaken, z. B. eine 5 Jahre alte, enthalten doch noch einige Hundert lebenstüchtiger Keime pro Kubikcentimeter.

Ein geringer Wasserzusatz zu der salzgesättigten Lake wird in kurzer Zeit den Bakteriengehalt rasch erhöhen.

Es scheint übrigens, als wenn die Bakterien unter den ungünstigen Vegetationsverhältnissen, die die salzreiche Lake bietet, sich nur am Leben halten können, so lange die Lake in direkter Berührung mit den Heringen ist. Zieht man nämlich junge bakterienreiche Laken von der Fustage auf geschlossene Flaschen, wo sie ohne Berührung mit Fischfleisch bleiben, so sind sie nach Verlauf von $^1/_2$—1 Jahr ganz frei von lebenden Bakterien.

Unter den gefundenen Bakterienformen, die sehr verschiedenartig sind, scheinen Kokken und sehr kurze Stäbchen die meist hervortretenden zu sein. Auch finden sich einige Pigmentbakterien, namentlich gelbe.

Die meisten Gelatinekulturen werden nach einiger Zeit verflüssigt.

Die Bakterien der Heringslake sind fakultative Fäulnisbakterien, deren Wirkungen durch den hohen Salzgehalt des Substrats verändert sind. Wird die Lake mit weniger als ihrem halben Volumen Wasser verdünnt, so tritt bald ein stinkender Fäulnisprozeß ein.

Bei einigen Versuchen, wo der Hering unter Zusatz von Antiseptica (Fluornatrium, salicylsaures Natrium) zum Salze und zur Lake gepackt war, wurde freilich der Hering gepökelt, ohne Entwickelung von Bakterien; doch sind solche Versuche noch zu wenig und zu unvollständig, als daß man das Pökeln als einen von Bakterien unabhängigen Prozeß betrachten kann. Sebelien (Aas, Norw.).

Rogoyski, K., Zur Kenntnis der Denitrifikation und der Zersetzungserscheinungen der tierischen Exkremente in der Ackererde. (Veröffentlichungen der Akademie der Wissenschaften in Krakau. 1900.)

Die bisherigen Untersuchungen über Denitrifikation, so zahlreich sie auch sind, lassen uns noch nicht erkennen, welches Schicksal der Stickstoff des sich im Boden unter Anwesenheit gewisser organischer Substanzen zersetzenden Salpeters erleidet. Die experimentellen Befunde Wagner's (Landw. Versuchsstat. Bd. XLVIII. 1897), wonach

der Salpeter sich im Boden bei Gegenwart von Kot zersetzt, wurde zwar von Dehérain (Annal. agron. 1898) und Warrington (Annal. agron. 1899) bestätigt. Diese Zersetzung tritt aber nach Dehérain erst bei einer so starken Beidüngung mit Kot ein, wie sie in der Praxis auch entfernt nie vorkommt. Bei mäßigen, für Stallmist in der Praxis üblichen Kotgaben war keine Spur der Zersetzung des zugefügten Salpeters zu beobachten; im Gegenteil, man fand nach einiger Zeit in der mit Kot gedüngten Ackererde mehr Salpeter, als man ihr zugefügt hatte.

Gegen die Versuche von Wagner wendet Dehérain ein, daß dieselben nicht auf freiem Felde, sondern in Töpfen ausgeführt wurden, in letzteren aber der Boden sich bedeutend mehr erwärmt als auf dem Felde, bei höheren Temperaturen würde aber die Denitrifikation ganz außerordentlich beschleunigt werden.

Mit Rücksicht auf diese Erwägungen veranlaßte daher Prof. Godlewski den Verf., erneuerte experimentelle Untersuchungen über diesen Gegenstand anzustellen.

Zur experimentellen Behandlung wurden zwei Fragen in Angriff genommen:

1) Es sollte festgestellt werden, ob der Stickstoff des Salpeters in einem Gemische von Erde und Kot bezw. Erde und Stroh wirklich im freien gasförmigen Zustande entweicht oder ob er, in andere Verbindungen umgewandelt, gänzlich oder teilweise in diesem Gemisch verbleibt.

2) Um zu erklären, warum bei den Topfkulturen eine Beidüngung des Bodens mit Kot oder Stroh den Erfolg einer Ammoniak- resp. Harndüngung herabsetzt, sollte untersucht werden, welches Schicksal der Stickstoff dieser Dungstoffe unter solchen Bedingungen erleidet, ob und wie weit er nitrifiziert oder vielleicht in andere unassimilierbare Verbindungen umgesetzt oder endlich als freier Stickstoff entbunden wird.

Die Versuche wurden in derselben Weise angestellt, wie sie Prof. Godlewski bereits im Vorjahre ausgeführt hat, nämlich:

7 Glastrichter wurden nach unten mit Glaswolle verstopft und teils mit Gartenerde, teils mit einem Gemisch von Gartenerde und Pferdekot gefüllt. Dieses Gemisch wurde mit einer bestimmten Menge Salpeterlösung resp. einer Lösung von schwefelsaurem Ammoniak durchfeuchtet und mit derselben Gartenerde bedeckt. Das Gemisch bestand aus je 4 Teilen Erde und 1 Teil Pferdekot, zur Bedeckung dieses Gemisches wurde außerdem noch je ein Teil Erde verwendet. Um etwa entweichendes NH_3 zu absorbieren, stellte man oben auf die Erde eine Porzellanschale mit Schwefelsäure. Ueber die Trichter wurde eine Glasglocke gestülpt, die mit Wasser nach außen abgesperrt wurde.

Vor Anstellung der Versuche wurde der Stickstoffgehalt in Erde und Pferdekot bestimmt. Die Mengen von Erde und Kot waren genau abgewogen, auch die zur Befeuchtung dienende Lösung war von bekanntem Gehalt, und da immer abgemessene Quantitäten zur Verwendung kamen, so war der ursprüngliche Gehalt an Stickstoff in jedem Trichter genau bekannt.

Am Schlusse wurde die Erde mit salicylhaltigem Wasser ausgewaschen (um vor weiterer Denitrifikation zu schützen). Für besseres Auswaschen und Binden des Ammoniaks erhielt das Waschwasser noch einen Zusatz von etwas Wein- oder Citronensäure.

Nach Verschwinden der Salpeterreaktion wurde die filtrierte Lösung auf 1 l aufgefüllt und davon aliquote Teile zur Bestimmung des Stickstoffs in verschiedenen Formen benutzt.

Die Erde selbst wurde bei 80° getrocknet und darin der Gesamtstickstoff nach Kjeldahl bestimmt.

Dieser erste, von Prof. Godlewski angestellte Versuch ergab, daß die Denitrifikation nicht immer mit dem Entweichen von freiem Stickstoff verbunden sein muß. Der Gesamt-Stickstoffgehalt hatte nicht oder nur ganz unbedeutend abgenommen, trotzdem eine namhafte Salpeterzerzetzung stattgefunden hatte. Der Stickstoff des Salpeters wurde als unlöslicher Stickstoff wieder gefunden.

Bei Gegenwart von viel Pferdekot wird die Menge des aus dem Ammoniakstickstoff sich bildenden Salpeters bedeutend herabgesetzt. Das zugefügte Ammoniak verschwand bis auf wenige Milligramme, nur anstatt nitrifiziert zu werden, ist sein Stickstoff zum Teil in unlösliche organische Verbindungen übergegangen, zum Teil wahrscheinlich als freier Stickstoff entwichen.

Aus den eigenen, vom Verf. selbst angestellten Versuchen sind folgende Resultate zu entnehmen:

1) Bei Anwesenheit großer Mengen von Pferdekot geht die Zersetzung des Salpeters im Boden nicht immer bis zur Entbindung von freiem Stickstoff vor sich. In allen Mischungen wurde der Stickstoff des zersetzten Salpeters nahezu vollständig wiedergefunden und zwar als unlöslicher Stickstoff. Was für Stickstoffverbindungen es sind, welche sich auf Kosten des Salpeters gebildet haben, muß derzeit unentschieden bleiben.

Die Salpetermengen, wie sie in den urspünglichen Mischungen enthalten waren, sind nach 5 Monate dauernder Zersetzung nahezu vollständig wieder gefunden worden. Wahrscheinlich sind die aus dem Salpeter im ersten Zersetzungsstadium gebildeten organischen Stickstoffverbindungen später aufs neue nitrifiziert worden.

2) Der Harnstickstoff wird in der Erde sehr schnell nitrifiziert. Die Anwesenheit großer Mengen von Pferdekot in der Erde kann der Harnzersetzung eine andere Richtung geben. Die löslichen Stickstoffverbindunger des Harns schwanden in diesem Falle sehr rasch, sie wurden aber nicht nitrifiziert, auch nur zum kleinen Teil in unlösliche Verbindungen übergeführt, sondern sie wurden zum größten Teil mit Entbindung von freiem Stickstoff zersetzt.

3) Diese Zersetzung der Harnstickstoffverbindungen schützt den Salpeter vor Denitrifikation. Erst nachdem die Harnstickstoffverbindungen vollständig zersetzt waren, kam der Salpeter an die Reihe. Die Denitrifikation des Salpeters verlief nun aber anders als in den Versuchen ohne Harn. Anstatt in unlösliche Verbindungen überzugehen, entwich jetzt der Stickstoff frei aus der Mischung.

Die schützende Wirkung des Ammoniaks (Harn) auf den Salpeter ließe vermuten, daß vielleicht dieselben Bakterien, welche das Am-

moniak zu freiem N verbrennen, nach Verbrauch desselben aber Salpeter zu freiem Stickgas reduzieren, daß es dagegen möglicherweise andere Bakterienarten giebt, welche den Salpeterstickstoff in unlösliche Verbindungen überführen.

4) In einem leider nur einmal angestellten Versuche war das Resultat ein ganz anderes, trotzdem die Mischung dieselbe war. Das Ammoniak verschwand auch hier aus der Mischung, anstatt aber eine Verbrennung zu freiem Stickgas zu erfahren, wurde es zum größten Teile nitrifiziert und sein Stickstoff verblieb in der Mischung als Salpeter.

5) Bei einer Zugabe von 5 Proz. Pferdekot, also wenigstens das Doppelte der in der Praxis üblichen Gabe, sind nur ganz unbedeutende Verluste des Gesamtstickstoffs eingetreten.

Die Anwendung von Stroh anstatt Kot brachte dem Verf. ein ähnliches Resultat: Von 178 mg löslichem Stickstoff fanden sich nach 3 Wochen nur noch 17,8 mg, dagegen wurden 138,6 mg als unlöslicher Stickstoff in der Mischung wiedergefunden.

Verf. stellt seine Hauptresultate wie folgt zusammen:

1) Bei der Denitrifikation des Salpeters in der Ackererde unter dem Einflusse einer Beimengung von großen Mengen des tierischen Kotes kann der Stickstoff des sich zersetzenden Salpeters je nach Umständen entweder frei aus der Erde entweichen, oder aber zum größten Teile oder auch gänzlich in unlösliche Verbindungen verwandelt, in derselben verbleiben.

2) Düngt man den Boden mit tierischem Harn (oder Ammonsalzen) unter Beidüngung von sehr großen Mengen tierischen Kotes oder Strohes, so kann der Harnstickstoff je nach Umständen entweder zu freiem Stickgas verbrannt oder in unlösliche Verbindungen übergeführt werden. Diese aus Harnstickstoff sich bildenden unlöslichen Verbindungen scheinen leicht nitrifizierbar zu sein.

3) Die unter 1 und 2 angegebenen Erscheinungen können nur dann zustande kommen, wenn der Erde ganz außerordentlich große, nie in der Praxis übliche Mengen des tierischen Kotes beigemengt werden. Bei Anwendung von mäßigeren, obwohl im Verhältnisse zu dem in der Praxis üblichen noch sehr großen Kotmengen treten diese Erscheinungen nicht ein, sondern der Salpeter verbleibt unverändert im Boden, und der Harnstickstoff wird in seiner Nitrifikation nicht gehindert.

4) Die weitläufigen Folgerungen, welche die deutschen Agrikulturchemiker aus ihren Untersuchungen über die Denitrifikation für die Praxis gezogen haben, sind unbegründet und belanglos.

Reinmann (Hildesheim).

Neue Litteratur,

zusammengestellt von

San.-Rat Dr. Arthur Würzburg,

Bibliothekar im Kaiserl. Gesundheitsamte in Berlin.

Systematik, Morphologie und Biologie.

Bubák, F., Zweiter Beitrag zur Pilzflora von Tirol. (Oesterreich. botan. Ztschr. 1900. No. 8. p. 293—295.)

Bucheler, Comment on peut faciliter la saccharification défectueuse et la fermentation des moûts de pomme de terre. (Rev. univ. de la distillerie. 1900. No. 1263, 1264.)

Hariot, P., Urédinées et ustilaginées nouvelles. (Journ. de botan. 1900. No. 4. p. 115—118.)

Hume, H. H., A new species of Puccinia. (Botan. gaz. 1900. No. 5. p. 352—353.)

Labor, La fermentation haute en cuve. (Progrès brassic. T. IV. 1900. p. 856—857.)

Klugkist, C. E., Zur Kenntnis der Schmarotzerpilze Bremens und Nordwestdeutschlands. III. (Abhandl. d. naturwissenschaftl. Vereins zu Bremen. 1900. p. 303—311.)

Matruchot, L., Sur une structure particulière du protoplasma chez une mucorinée et sur une propriété générale des pigments bactériens et fongiques. (Rev. génér. de botan. 1900. No. 134. p. 33—60.)

Ménégaux, A., Sur un curieux parasite du ver à soie (Ugimyia sericariae Rondani) d'après les recherches de Sasaki. (Bullet. scientif. de France et de Belgique. 1899. p. 333—340.)

Montemartini, L., Ricerche sulla struttura delle Melanconiee ed i loro rapporti cogli Ifomiceti e colle Sferossidee. (Estr. d. Atti d. r. istit. botan. d. univers. di Pavia. 1900). 4°. 44 p. Milano 1900.

Wager, H., On the fertilization of Peronospora parasitica. (Annals of botany. 1900. No. 54. p. 263—279.)

Windisch, W. u. Schellhorn, B., Ueber das Eiweiß spaltende Enzym der gekeimten Gerste. (Wchschr. f. Brauerei. 1900. No. 24, 26—29. p. 334—336, 409—413, 425—428, 437—439, 449—452.)

Beziehungen der Bakterien und Parasiten zur unbelebten Natur.

Boden.

Krüger, W., Ueber Salpeter zersetzende Bakterien. (Verhandl. d. Gesellsch. dtsch. Naturforscher u. Aerzte. 71. Versamml. zu München 1900. II. Teil. 1. Hälfte. p. 156—157.) Leipzig (F. C. W. Vogel) 1900.

Omeliansky, Ueber die Salpeterbildung aus organischem Stickstoff. (Ztschr. d. Ver. d. dtsch. Zuckerindustrie. 1900. Lief. 535. p. 711—713.)

Pfeiffer, Th., Ueber Denitrifikation. (Verhandl. d. Gesellsch. dtsch. Naturforscher u. Aerzte. 71. Versamml. zu München 1900. II. Teil. 1. Hälfte. p. 157—159.) Leipzig (F. C. W. Vogel) 1900.

Nahrungs- und Genußmittel, Gebrauchsgegenstände.

Milch, Molkerei.

Petit, Ch., Titrage des caillettes; leur rendement en présure et détermination de la pureté relative des ferments qu'elles contiennent. (Laiterie prat. 1900. p. 111—112.)

Bier, Brauerei.

Kropf, P., Procédé de fermentation pour accélérer la clarification et l'aromatisation de la bière en évitant une fermentation secondaire. (Rev. univers. de la brasserie et de la malterie. 1900. No. 1282, 1283.)

Sadones, Sur la pratique du contrôle microbiologique en brasserie. (Petit Journ. du brasseur. 1900 p. 291—294.)

Beziehungen der Bakterien und Parasiten zu Pflanzen.

Harmlose Bakterien und Parasiten.

Halsted, B. D., Experiments with „nitragin“ and other germ fertilizers. (Rep. of the botan. departm. of the New Jersey agricult. college experim. stat. 1899. p. 367—379.)

Hensolt, Die Bakterien in ihrer Bedeutung für Acker- und Pflanzenbau. (Landwirtschaftl. Annalen d. mecklenb. patriot. Vereins. 1900. No. 33. p. 257—260.)

Krankheitserregende Bakterien und Parasiten.

Bargagli, P., Notizie intorno ad alcune malattie del castagno. (Atti d. r. accad. econom.-agrar. dei Georgofili di Firenze. 4. ser. Vol. XXII. 1899. Disp. 2.)

v. Beck, G., Ueber eine neue Krankheit unserer Radieschen. (Sitzber. d. naturwissensch.-mediz. Ver. f. Böhmen „Lotos“. 1899. No. 8.) 8°. 4 p.

Borthwick, A. W., Notes on the Witches Broom of Pinus silvestris. (Transact. and proceed. of the botan. soc. of Edinburgh 1900. p. 196—197.)

Bouchard, A., Les parasites des cultures de laitues et carottes porte-graines. (Journ. d'agricult. prat. 1900. No. 33. p. 243—245.)

Boudier, Description d'une nouvelle espèce d'Exobasidium parasite de l'Asplenium filix femina et note sur le Tricholoma colossum Fr. etc. (Bullet. de la soc. mycol. de France. 1900.) 8°. 8 p. Lons-le-Saunier 1900.

Cavara, F., Arcangeliella Borziana nov. gen. nov. sp. Nuova imenogasterea delle abetine di Vallombrosa. (Nuovo giorn. botan. ital. N. S. Vol. VII. 1900. No. 2. p. 117—128.)

Chittenden, F. H., Some insects injurious to garden crops. A series of articles dealing with insects of this class. (U. S. Departm. of Agricult. Divis. of entomol. N. S. Bullet. 1900. No. 23.) gr. 8°. 92 p. Washington 1900.

Dohrn, H., Ueber schädliche Insekten und ein sachverständiges Gutachten. (Stettiner entomol. Ztg. 1900. No. 1/6. p. 149—163.)

Eriksson, J., La phytopathologie au service de la culture des plantes. (VI. Congrès internat. d'agricult. Paris. T. I. 1900.) 8°. 4 p. Paris 1900.

Frömbling, Verschiedene Ursachen der Kiefernschütte. (Ztschr. f. Forst- u. Jagdwesen. 1900. Heft 8. p. 462—467.)

Halsted, B. D., Soil fungicides for potato and turnip diseases. (Rep. of the botan. departm. of the New Jersey agricult. college experim. stat. 1899. p. 326—367.)

Hertzog, A., Der Aescherig ist da! (Mitteil. üb. Weinbau u. Kellerwirtschaft. 1900. No. 8. p. 122—124.)

Hinze, A., Bemerkungen über die Herzfäule der Rüben. (Blätter f. Zuckerrübenbau. 1900. No. 15. p. 235—237.)

de Jaczewski, A., Un nouveau champignon sur le Caragana arborescens, Pleospora Caraganae. (Rev. mycolog. 1900. No. 87. p. 79—82.)

Lagerheim, G., Beiträge zur Kenntnis der Zoocecidien des Wachholders, Juniperus communis L. (Entomol. Tidsskr. 1900. p. 113—126.)

Lesne, P., Destruction du charançon du blé. (Journ. d'agricult. prat. 1900. No. 34. p. 266—267.)

Marchall, E., Rouille des céréales. (Journ. de la soc. agricole du Brabant-Hainaut. 1900. p. 286—288.)

Montandon, A. L., Sur les insectes nuisibles en Roumanie. (Bull. Soc. Sciente Bucarest. An. IX. 1900. No. 2/3. p. 201—209.)

Passerini, N., Esperienze per combattere la peronospora della vite istituite nel 1899. (Atti d. r. accad. economico-agrar. dei georgofili di Firenze. 4. ser. Vol. XXIII. 1900. Disp. 1.)

Petermann, A., Over het kwaad dat de nitraat kan doen die perchloraat bevat. (Landbouwgalm. 1900. No. 8.)

Prunet, A., Le black rot en Bas-Armagnac. (Rev. de viticult. 1900. No. 350. p. 229—232.)

Pynaert, E., Nieuw schadelijk insect voor ooftboomen. (Tijdschr. over boomteeltk. 1900. p. 40—41.)

Pynaert, E., Nouvel insecte nuisible aux arbres fruitiers. (Bullet. d'arboricult. et de floricult. potagère. 1900. p. 40—41.)

Reichelt, Der Kohlgallenrüßler. (Ratgeber f. Obst- u. Gemüsebau. 1900. No. 10. p. 74—75.)

Rörig, Ein neues Verfahren zur Bekämpfung des Schwammspinners. (Arb. a. d. biolog. Abt. f. Land- u. Forstwirtschaft am kaiserl. Gesundh.-A. Bd. I. 1900. Heft 2. p. 255—270.)
v. **Schilling**, Entblätterung durch Miniermotten. (Prakt. Ratgeber im Obst- u. Gartenbau. 1900. No. 36. p. 355—356.)
Schreiber, C., La nématode et les sels ammoniacaux. (Journ. de la soc. roy. agric. de l'est de la Belgique. 1900. p. 45—46.)
Severi, N., Quelques observations sur le Bombyx ligniperda. (Semaine hortic. 1900. p. 104.)
Sintenis, F., Forstinsekten der Ostseeprovinzen. (Sitzber. d. Naturforscherges. bei d. Univers. Jurjeff (Dorpat). Bd. XII. 1899. Heft 2. p. 173—198.)
Snow, W. A. and **Mills, H.**, The destructive Diplosis of the Monterey Pine (D. pini-radiatae n. sp.). (Entomol. News. 1900. No. 6. p. 489—494.)
Timm, K., Hilft Düngung gegen die Blattfallkrankheit? (Prakt. Ratgeber im Obst- u. Gartenbau. 1900. No. 36. p. 355.)
Trotter, A., Ricerche intorno agli entomocecidi della flora italiana. (Nuovo giorn. botan. ital. N. S. Vol. VII. 1900. No. 2. p. 187—206.)
Voglino, P., Intorno ad una malattia bacterica delle fragole. (Annali d. r. accad. di agricolt. di Torino. Vol. XLII. 1899.)
Wappes, Die Bekämpfung der Kiefernschütte. (Prakt. Blätter f. Pflanzenschutz. 1900. Heft 8. p. 57—58.)
Wehmer, Der Apfelbaumkrebs. (Sep.-Abdr. a. Hannov. Garten- u. Obstbau-Ztg. 1900. No. 7.) 4°. 2 p.
Weiss, J. E., Ueber den gegenwärtigen Stand der Bekämpfung der Pilzkrankheiten unserer Kulturgewächse. (Mitt. d. bayer. botan. Gesellsch. 1900. No. 15.)
Zehntner, L., Een ziekte in het Loetherriet. (Verslag over 1899 van het proefstat. v. suikerriet in West-Java te Kagok-Tegal. 1900. p. 20.)
— —, Wilde voederplanten en verspreiding der boorders. (Ibid. p. 27—28.)
Zürn, E. S., Ein gefährlicher Feind unserer Feld- und Garten-Kulturgewächse und seine erfolgreiche Vertilgung. (Prakt. Blätter f. Pflanzenschutz. 1900. Heft 8. p. 58—61.)

Inhalt.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.

Centralblatt

für

Bakteriologie, Parasitenkunde u. Infektionskrankheiten.

Zweite Abteilung:

Allgemeine, landwirtschaftlich-technologische Bakteriologie, Gärungsphysiologie, Pflanzenpathologie und Pflanzenschutz.

In Verbindung mit

Prof. Dr. Adametz in Wien, Prof. Dr. J. Behrens in Weinsberg i. W., Prof. Dr. M. W. Beijerinck in Delft, Dr. v. Freudenreich in Bern, Privatdocent Dr. Lindau in Berlin, Prof. Dr. Lindner in Berlin, Dr. Morris, Chef des Hansen-Laboratory, Jenner-Institute of Preventive Medicine in London, Prof. Dr. Müller-Thurgau in Wädensweil, Dr. Erwin F. Smith in Washington, D. C., U. S. A., Prof. Dr. Stutzer in Breslau, Prof. Dr. Wehmer in Hannover, Prof. Dr. Weigmann in Kiel und Prof. Dr. Winogradsky in St. Petersburg

herausgegeben von

Dr. O. Uhlworm in Cassel

und

Prof. Dr. Emil Christian Hansen in Kopenhagen.

Verlag von Gustav Fischer in Jena.

VI. Bd. Jena, den 11. Dezember 1900. **No. 24.**

Jährlich erscheinen 26 Nummern. Preis für den Band (Jahrgang) 20 Mark. Preis für eine einfache Nummer 75 Pfg., für eine Doppelnummer 1 Mark 50 Pfg. Nummern mit Tafeln kosten für jede Tafel 50 Pfg. mehr.

Hierzu als regelmäfsige Beilage die Inhaltsübersichten der I. Abteilung des Centralblattes.

Original-Mitteilungen.

The Bacterial Flora of American Cheddar Cheese: Its Constancy and Distribution[1]).

By **John Weinzirl**,
University of New Mexico, Albuquerque, N. M., U. S. A.

In a former investigation [2]) it appeared that the bacterial flora of American cheddar cheese presented quite uniform and striking conditions. The lactic acid-producing type of bacteria greatly

1) Especial thanks are due to my former kind Professor Dr. H. L. Russell of the University of Wisconsin, under whose supervision the present investigation was carried out.

2) Russell and Weinzirl. Cent. f. Bakt. Abt. II. Bd. III. p. 456.

predominated, while the caseindigesting forms were relatively few or absent altogether as in the case of cheese a number of months old.

These conditions were found to obtain in cheese made at the University of Wisconsin Dairy School. The question naturally arose, Is this flora merely a local one, or does it prevail in other places as well? If it is merely a local flora, then generalizations based upon it are of little value. To answer the above question, was the purpose of the present investigation. To this end, samples of cheese were secured from different factories and from as wide an extent of territory as practicable. These samples were then submitted to bacteriological analysis.

Method of Collecting Samples.

The method adopted for collecting the samples was as follows. Large test-tubes plugged with cotton-wool, were sterilized and then placed in suitable wooden cases. These cases were sent by mail to the factories, or carried by the Inspector[1]) on his annual tour of inspection. A small cylinder of cheese was drawn from the centre of the loaf, placed in the sterile test-tube and returned to the laboratory. A considerable number of samples were also obtained from the commission merchants of Chicago, Ills., and the remainder direct from the retail grocers of Albuquerque, New Mexico. The source of the sample could not be definitely located in all cases, but usually the name of the state was obtained. The territory covered was ample, including at least eight states and the Dominion of Canada.

Method of Analysis.

The sample obtained as previously described, was pared with a sterile knife and a small portion of the interior added direct to a tube of sterile melted gelatin. By means of a sterile glass rod this was converted into an emulsion. Of this emulsion several drops were introduced into a second tube, and a smaller quantity into a third. All three tubes were then plated in the usual way, petri dishes being used. After the plates had developed (7—10 days) relative counts were made of the various species of bacteria present. This method always gave one workable plate, while the first plate would show any liquefying colonies that might otherwise escape. These liquefying colonies were usually contaminated by other colonies, so that the bacterium was not always isolated. Nor were the species isolated in the case of rare colonies which may at times be due to accidental contamination.

In counting the colonies the lower powers of the microscope were frequently employed. This was necessary because of the extreme smallness of B_1 (B. lactis acidi) which was usually the most abundant species present. In using the microscope a large

---

1) I desire to acknowledge with thanks, the services of Prof. J. W. Decker who so kindly assisted in collecting these samples.

number of fields were counted and the percentage relations thus established.

Results of Analyses.

Perhaps the discussion of the analyses might with advantage be postponed until the analyses are recorded. For the sake of brevity these have been condensed into the following table (see p. 788 and 789):

1) Number of Analyses Made. — In all 62 analyses of cheese were made. Of these, 50 were Cheddar, 6 Brick, 4 Swiss, 1 Limburger and 1 Brie, all being American make. No special attempt was made to secure other than Cheddar samples, but as opportunity gave us a number of others, they were analyzed, and, as the table shows, present much the same conditions as the Cheddar. All except the Brie are of the firm variety of cheese.

2) Source of Samples. — The territorial distribution of the cheese analyzed may be summarized as follows:

Wisconsin	41	Minnesota	1
New York	5	Illinois	1
Pennsylvania	2	Dakota	1
Michigan	2	Canada	1
Colorado	2	Unknown	6

The forty-one samples from Wisconsin represent twenty separate factories in various parts of the state. The samples collectively come for the most part from the great cheese belt or zone of the United States. Thus a sufficient scope of territory is represented to warrant the conclusion that the flora found is typical for American cheese.

3) Age of Samples. — The ages of twenty-five of the samples of cheese are definitely known and cover periods varying from 2 to 450 days, the intervening time being well represented. This is of considerable importance since it might be expected that the flora would change with the chemical changes that take place during the ripening period. Most observations have been confined to ripened cheese, but it is the flora of the ripening period that is of supreme importance, especially to the cheese-maker, for if the bacteria present exert any influence upon the flavor or quality of the cheese they may be assumed to do so during this time.

4) The Cheese Flora. — It is quite remarkable that the number of species of bacteria in cheese (if we disregard occasional or rare colonies) is quite limited. The number is greatest in freshly made cheese, and diminishes during and after the ripening period. Old cheese (3—12 mos.) frequently contain but a single species with perhaps an occasional colony of another type.

By referring to the table it is seen that B_1 or B. lactis acidi[1]) is the prevailing organism, it being present in all the

1) B_1 is a very small bacillus usually short and plump with rounded ends, but at times it presents a more slender appearance. It is usually single, but may form short irregular chains. There is no motility, nor does it form spores. On the gelatin plate it grows as a small round pin-point colony, generally regular

Table I. — Giving Summary of Analyses of cheese.

No.	Kind	Age in days	Where made	No. of spp.	Bacterium B 1 %	Bacterium B 2 %	Occasional bacteria	Molds and yeasts	Remarks
1	Cheddar	14	Boscobel, Wis.	2	99	1			
2	”	20	Wis.	3	99,9	0,1			Several liquefiers also present
3	”	4	Cayenovia, Wis.	3	83	13	B 3 = 4 %	Molds	Cheese made from "pin-holey" curd
4	”	?	” ”	3	95	4	B 3 = 1 %	0	Made from fine curd
5	”	19	Wis.	2	100	Trace			
6	”	390	”	2	92	8			Fine cheese
7	”	450	”	1	100				4,030 germs per g of cheese
8	”	?	Madison, Wis.	3	70	30			Trace of liquefiers
9	”	30	Binghamton, Wis.	3	Many	Few	B 3 = trace	Yeasts	Plates partly liquefied by warm weother
10	”	37	Verfkind, Wis.	3	Present	Present	B 3 present		Plates partly liquefied
11	”	30	Boving, Wis.	2	”	”		Yeasts	Plates melted
12	”	?	Madison, Wis.	2	90	10			
13	”	6	” ”	3	MostNumer's	Numerous	M 3 = few		Counts not made
14	Brick	49	Cold Spring, Wis.	3	53	47		Yeasts	Pitted liquefiers also present
15	Cheddar	14	Wis.	3	30	10	M 1 = 60 %		
16	”	23	Hortonville, Wis.	4	57	38	M 2 = 4 % M 3 = 1 %		
17	”	21	Wis.	3	23	75	M 3 = 2 %		Quality of cheese not noted
18	”	14	”	2	48	51		Yeast = 1 %	
19	”	?	Manchester, Wis.	3	49	50	B 3 = 1 %		
20	”	60 (?)	Dakota	4	63	21	M 2 = 11 % M 3 = 5 %		
21	”	36	Tonet, Wis.	3	82	17	M 2 = 1 %		Fine cheese
22	”	24	Peebles, Wis.	3	72	27	M 3 = 1 %		Cheese made from tainted milk
23	”	30	Ahnapee, Wis.	3	57	42	M 3 = 1 %		
24	”	30	Rio Creek, Wis.	3	68	30	B 4 = 2 %		
25	”	6	Patch Grove, Wis.	4	Present	Present	B 3 and B 6 = P		Cheese made from "gassy" milk
26	”	22	” ”	2	58	42			Cheese made from good milk

27	Cheddar	3	Patch Grove, Wis.	3	80	3	B 3 = 17 %	Molds	
28	„	2	„ „	2	75	25		0	
29	„	26	Warsaw, Canada	2	29	17		Yeast = 54 %	Sample badly molded
30	„	?	Michigan	2	40	59	M 3 = 1 % B 6 = few		
31	„	?	„	2	39	61		0	
32	Limburger	?	Monticello, Wis.	2	70		B 7 = 30 %	Molds	
33	Cheddar	?	Minnesota	4	85,7	12,6	B 3 = 1,4 % B 5 = 0,3 %	„	
34	„	?	Avoca, Wis.	3	37	54	B 3 = 9 %	0	
35	„	?	Hortonville, Wis.	2	18	82		Molds	Cheese was kept in cold storage, 3 months
36	„	90 (?)	New York	3	99	0,5	B 3 = 0,5 %	0	
37	„	?	Illinois	2	23	77			Evidence of gas
38	„	?	?	3	50	48	B 5 = 2 %	0	Poor cheese
39	„	?	Plymouth, Wis.	3	53	47	Fewliquefiers	0	Evidence of gas
40	„	?	Wis.	3	Present	Present	B 5		
41	„	?	Plymouth, Wis.	3	27	70	B 5 = 3 %	Molds	„ „ „
42	„	?	Plain, Wis.	3	66	33	B 5 = 1 %		
43	„	51	Trim Belle, Wis.	4	98	1	B 5 and B 3 = 1 %		
44	„	?	Penn	2	95	5		Molds	
45	„	?	Meadville, Penn	3	98	1	B 5 = 1 %		
46	Brick	?	Wis.	2	97	3			
47	Swiss	?	N. Y. (?)	1	100				
48	Cheddar	?	Colorado	3	100	Trace	M 4		
49	Brie	?	?	2	100		M 4 = trace		
50	Cheddar	?	New York	3	95	5	B 3 = trace		
51	Swiss	?	?	2	98	2			
52	Cheddar	?	?	2	90	10			
53	Brick	?	Wis. (?)	3	69	31	Pitted liquefier	0	Gassy cheese
54	Cheddar	?	?	2	99	1		0	
55	„	?	?	2	93	7		0	
56	Brick	?	Colorado	2	92,5	7,5		Mold	
57	Cheddar	?	New York	2	98	2		„	
58	„	?	„ „	2	90	10		„	
59	Swiss	?	Wis.	1	100			„	
60	Brick	?	„	2	62	38			Gas evident in cheese
61	Swiss	?	„	1	100			0	Old cheese (?)
62	Brick	?	„	1	100			0	„ „ (?)

cheese analyzed. It is the predominating bacterium in nearly all the analyses, and presents an average of 74,2 % of the total bacterial content. This is probably identical with Freudenreich's[1]) Bacillus a, found in Swiss Emmenthaler cheese, and appears to be the same as Henrici's[2]) B. granulatum isolated from three different kinds of cheese. Under still other names it has probably been isolated from many kinds of cheese. It appears to be a universal organism in the cheese industry and undoubtedly exerts some important influence over the final character of the product.

Standing next to the above in importance is B_2 or B. acidi lactici (Hueppe) with an average of 21,9 % of the bacterial content. This bacillus was absent in a few analyses only, as in the case of very old cheese. Together B_1 and B_2 include 96,1 % of the bacteria found in cheese, leaving only 3,9 % for all the remaining species. Both produce lactic acid abundantly, but they do not digest the casein of milk.

In B_3 [3]) we have quite a frequent representative; M_8 is a micrococcus with the physiological characteristics of B_8, but is more rare. They are both acid producers, but differ from the former organisms in that they slowly peptonize gelatin. For practical purposes they may be included in the same group with them — the lactic acid-producing group of bacteria of cheese.

Regarding the other bacteria found little need be said. Five of them produce no apparent change when grown in milk. Their presence in the cheese may be regarded as accidental and they probably play no important rôle in cheese-making.

Only one bacterium (B_6) was found to correspond to Duclaux's Tyrothrix forms. As a single or rare colony on the plate it was present perhaps more often than the table would indicate, but was not isolated.

---

with quite dark granular center. It does not liquefy the gelatin. In the gelatin stab the growth is along the entire needle track and in time becomes moderately abundant. The granular growth is characteristic. On the agar slant the growth is slight and granular. On potato it is slight, white, and restricted. It grows well in glucose media and produces acid abundantly as shown by litmus test. In milk it precipitates the casein in 24—36 hours. The curd is firm with little, or no whey. No digestion takes place. It is a facultative anaerobe and grows best at about 25 ° C.

The writer has observed microscopical and biological variations in this organism which seem to indicate the possibility of several varieties, but he has not regarded these variations sufficient to construct independent species, as has been done in the work of Leichmann and Bazarewski (C. f. B., Abt. II, Bd. VI, p. 245).

1) Landw. Jahrb. d. Schw. VIII, p. 207.

2) Beitrag zur Bakterienflora des Käses: Arbeiten a. d. Bakt. Inst. Karlsruhe. Bd. I, Heft I. 1894.

3) This bacterium may be briefly described as follows: A small motile bacillus about twice as long as broad; single and in short chains. It first appears as a small solid round colony on the plate, but later forms a cup shaped liquid cavity with an opaque center and a clear border. It slowly liquefies the gelatin stick, grows abundantly on agar, first milky-white, later grey-brown. It precipitates the casein of milk in 3—5 days, producing a soft slimy curd which is slowly digested. It does not produce gas. It may be the same as Henrici's B. Gracilesceus.

From the foregoing the conclusion seems warranted that the lactic acid-producing group of bacteria is constantly present in cheese, at least in our firm varieties, and that it plays the most important rôle in the cheese industry. What their function is cannot be stated positively at present. Freudenreich's[1]) contention that they take part in the curing or converting of the casein into soluble or digestible proteids, would seem a most logical conclusion. But in the light of the discovery, and isolation by Babcock and Russell[2]) of the unorganized ferment, galactase, which performs this same function, it does not appear that they exercise any considerable part in this process. It would seem more likely that they exert a considerable influence upon the flavor of the cheese. Indeed we have frequently employed B. Lactis acidi as a "starter" in cheese-making with very favorable results.

The gas-producing character of B. acidi lactici remains to be noted. When present in small numbers, this organism may produce no untoward effects, but when it predominates it causes the swelling or "huffing" of the cheese, which is highly detrimental to the product.

[Nachdruck verboten.

Studien über die Enzyme im Käse.

Von **Orla Jensen,**
I. Assistenten des bakteriologischen Laboratoriums der schweizerischen landwirtschaftlichen Versuchs- und Untersuchungsanstalten in Bern.

(Fortsetzung.)

Die äußeren Schichten der soeben besprochenen Käse 7 und 5 habe ich deshalb unter Säurezusatz einer Selbstverdauung unterworfen. Die Tabellen XVII und XVIII zeigen die Resultate.

Tabelle XVII.

Schmiere + Speckschicht vom Romadurkäse 7	35° C 2 ‰ Buttersäure		35° C 2 ‰ Milchsäure		Zimmertemperatur 4 ‰ Milchsäure	
1 ‰ Formalin	LN	ZN	LN	ZN	LN	ZN
Nach 15 Stunden	22,21	4,09	17,14	4,09	27,08	3,70
Nach 14 Tagen	30,19	11,30	28,25	5,65	36,04	3,70

---

1) v. Freudenreich and Jensen — Die Bedeutung der Milchsäurefermente für die Bildung von Eiweißzersetzungsprodukten in Emmenthalerkäsen etc. (Cent. f. Bakt. Abt. II. Bd. VI. p. 12.)

2) Annual Repts. Agr. Expt. Sta., University of Wisconsin, 1897, 1898 and 1899.

Also Cent. f. Bakt. Abt. II. Bd. VI. p. 17. Recently confirmed by von Freudenreich. — Cent. f. Bakt. Abt. II. Bd. VI. p. 332.

Tabelle XVIII.

Schmiere + Speckschicht vom Romadurkäse 5	35° C. 2 °/₀₀ Milchsäure			
1 °/₀₀ Formalin	LN	ZN	AN	Acidität
Nach 15 Stunden	35,14	6,72	3,17	43
Nach 6 Tagen	56,45	14,02	3,47	56

Vergleichen wir diese Tabellen mit Tabelle XVI, so sehen wir erstens, daß der Säurezusatz eine Ausfällung der löslichen Proteïnstoffe verursacht, und daß diese Ausfällung bei 35° C bedeutend stärker als bei Zimmertemperatur ist. Ferner sehen wir, daß die Selbstverdauung durch die Säure stark verzögert wird. Interessant ist der Unterschied zwischen der Wirkung von Buttersäure und Milchsäure, indem die erstere für die Enzyme, welche die Zersetzungsprodukte bilden, viel weniger störend zu sein scheint als die letztere. Die Tabelle XVIII zeigt dazu, daß die Ammoniakbildung, aber nicht die Säurebildung, durch Säure verzögert wird.

Die folgenden Tabellen zeigen die Einwirkung der Erwärmung auf die Enzyme der äußeren Schichten der zwei Romadurkäse 5 und 7.

Tabelle XIX.

Schmiere + Speckschicht vom Romadurkäse 7	$^1/_2$ Stunde auf 95° C erwärmt			
35° C, 1 °/₀₀ Formalin	LN	ZN	AN	Acidität
Nach 15 Stunden	30,22	3,49	1,01	12
Nach 14 Tagen	29,42	3,51	1,01	12

Tabelle XX.

Schmiere + Speckschicht vom Romadurkäse 5	$^1/_2$ Stunde auf 80° C erwärmt		$^1/_2$ Stunde auf 95° C erwärmt			
35° C 1°/₀₀ Formal.	LN	ZN	LN	ZN	AN	Acidität
Nach 15 Stunden	36,86	6,33	37,44	6,00	3,55	10
Nach 6 Tagen	36,86	24,58	35,33	5,92	3,69	11

Man sieht deutlich, daß die Enzyme, welche lösliche Proteïnstoffe bilden, schon bei Erwärmung auf 80° C zerstört werden, die Enzyme dagegen, welche Zersetzungsprodukte bilden, erst bei höherer Temperatur. Diese zwei Enzyme sind also voneinander unabhängig, was die Selbstverdauungsversuche bei verschiedener Temperatur auch bestätigen (Tabelle XVI). Ferner zeigen die vorstehenden Tabellen, daß eine Ammoniak- und Säurebildung in der erwärmten Käsemasse nicht stattfindet, was beweist, daß diese zwei Prozesse auch Enzymwirkungen sind.

Daß das Durchscheinendwerden der äußeren Schichten eines Backsteinkäses seine Entstehung den an der Oberfläche gebildeten En-

zymen zu verdanken hat, und daß es nicht etwa ein Oxydationsvorgang ist, zeigt das Resultat eines bei einem anderen Anlasse ausgeführten Versuches, aus welchem sich ergiebt, daß, wenn man einen jungen Backsteinkäse in Paraffin einschmilzt, die Speckschicht mit der Zeit merkbar zunimmt, daß dagegen, wenn man vor dem Einschmelzen eines solchen Käses die Oberfläche abschält, keine Speckschicht entsteht. Es ist ferner Thatsache, daß halbreife Backsteinkäse nicht mehr der Luft bedürfen, um vollreif zu werden, indem solche Käse schon zum Zwecke der Versendung in Pergamentpapier eingewickelt, in Kisten dicht nebeneinander gepackt werden können.

Bis jetzt haben wir nur die kräftigen Enzyme der äußeren Schichten der Backsteinkäse untersucht, die Tabellen XIV und XV zeigen jedoch, daß der weiße, scheinbar unveränderte Kern eines Backsteinkäses auch eine immer fortschreitende Reifung durchmacht und auch Enzyme enthält. Da diese Enzyme, jedenfalls was junge Backsteinkäse betrifft, kaum schon von der Oberfläche hineindiffundiert sein können, ist es wahrscheinlicher, daß sie aus der frischen Käsemasse stammen, also aus Galaktase oder Pepsin bestehen, oder daß sie von den im Kerne anwesenden Bakterien herrühren.

Um zu sehen, ob diese Enzyme Galaktase seien, müssen wir das Verhalten des Kernes jüngerer Backsteine gegenüber der Formalinätherprobe untersuchen. Als Versuchsobjekt dienten zwei auf der Molkereischule Rütti aus der gleichen Milch hergestellte Käse, der eine 2 und der andere 9 Tage alt, samt dem 6 Wochen alten Allgäuer Romadurkäse 5.

Tabelle XXI.

Kern vom	Limburgerkäse 8 2 Tage alt		Limburgerkäse 9 9 Tage alt	
35° C	LN	ZN	LN	ZN
Nach 15 Stund. mit 1 ‰ Formalin	8,51	0,71	12,27	0,99
Nach 14 Tagen mit 1 ‰ Formalin	25,26	2,47	21,88	3,23
Nach 14 Tagen mit 25 % Aether	26,90	1,92	23,47	2,37

Tabelle XXII.

Kern vom	Romadurkäse 5 6 Wochen alt	
35° C	LN	ZN
Nach 15 Stunden mit 1 ‰ Formalin	24,32	5,27
Nach 6 Tagen mit 1 ‰ Formalin	32,27	9,31
Nach 6 Tagen mit 25 % Aether	30,41	8,69

Von den verschiedenen frischen Käsemassen, welche ich untersucht habe, muß die frische Masse eines Backsteinkäses infolge ihrer Herstellungsweise der Masse 1 in der Tabelle IV am nächsten kommen, wir finden jedoch schon nach wenigen Tagen der Formalin-

ätherprobe gegenüber gar keine Aehnlichkeit mehr. Nicht nur ist die Vermehrung des LN mit Aether als Antiseptikum bedeutend geringer geworden als in der frischen Käsemasse, was eine Abschwächung der Galaktase beweist, sondern die Vermehrung mit Formalin als Antiseptikum ist im Innern des nur 2 Tage alten Limburgerkäses größer geworden, woraus zu schließen ist, daß Bakterienenzyme schon in dieser Zeit entstanden sind. Ueberhaupt zeigen alle drei Käse, daß die Enzyme der inneren Masse bei 35° C so wenig empfindlich gegenüber 1 ‰ Formalin sind, daß die Galaktase nur einen ganz untergeordneten Teil derselben bilden kann.

Daß die Galaktase kein notwendiger Faktor für die Reifung der Backsteinkäse ist, geht aus den Versuchen von Klein und Kirsten[1] hervor, indem es diesen Forschern gelungen ist, aus Milch, in welcher die Galaktase durch Erwärmen abgetötet war, normal reifende Backsteinkäse zu erzeugen.

Die Enzyme der inneren Masse eines Backsteinkäses werden durch ein halbstündiges Erwärmen auf 80° C vollständig abgetötet, und wie nachfolgende Tabellen zeigen, wirken sie bei Zimmertemperatur etwas langsamer als bei 35° C.

Tabelle XXIII.

Kern vom	Limburgerkäse 9, 9 Tage alt	
1 ‰ Formalin	LN	ZN
Nach 15 Stunden bei 35° C	12,27	0,99
Nach 14 Tagen bei Zimmertemperatur	21,10	1,72
Nach 14 Tagen bei 35° C	21,88	3,23

Tabelle XXIV.

Kern vom	Romadurkäse 10, 14 Tage alt	
1 ‰ Formalin	LN	ZN
Nach 15 Stunden bei 35° C	10,20	2,72
Nach 6 Tagen bei Zimmertemperatur	14,63	3,06
Nach 6 Tagen bei 35° C	16,50	4,42

Die Tabelle XXV im Vergleich mit den Tabellen XXIV und XXII zeigt, daß schon mit 2 ‰ Milchsäure die Bakterienenzyme der inneren Backsteinkäsemasse abgeschwächt werden, indem die Vermehrung des ZN jetzt viel geringer als ohne Säure ist. Mit 4 ‰ Milchsäure hört, wie die Tabelle XXVI zeigt, die Bildung von ZN vollständig auf. Mit dem Säurezusatze tritt dagegen das Pepsin sofort in Wirksamkeit, was sich durch eine stärkere Vermehrung des LN kundgiebt.

Tabelle XXV.

2 ‰ Milchsäure	Kern vom Romadurkäse 10, 2 Wochen alt		Kern vom Romadurkäse 5, 6 Wochen alt	
35° C. 1 ‰ Formalin	LN	ZN	LN	ZN
Nach 15 Stunden	15,65	2,21	29,47	5,40
Nach 6 Tagen	21,26	2,36	35,68	6,52

1) Milchztg. 1900. No. 12.

Tabelle XXVI.

4 ‰ Milchsäure	Kern vom Romadurkäse 7 4 Wochen alt	
Zimmertemperatur 1 ‰ Formalin	LN	ZN
Nach 15 Stunden	8,02	2,26
Nach 14 Tagen	25,49	2,26

Die Zahlen dieser Tabellen stellen also fest, daß das Pepsin wirklich in den in der Praxis hergestellten Backsteinkäsen bleibend vorhanden ist. Währenddem die freie Milchsäure in einem Backsteinkäse die Galaktase stark abzuschwächen scheint, konserviert diese Säure das Pepsin und begünstigt seine Wirkung. Wie in der Tabelle XII gezeigt, beträgt die Menge freier Milchsäure eines Backsteinkäses in den ersten Reifungsstadien über 6 ‰, eine Menge, die so groß ist, daß von den im Inneren vorkommenden Enzymen unter diesen Umständen überhaupt nur das Pepsin seine Wirkung ausüben kann. Die anfängliche Reifung des weißen Kernes eines Backsteinkäses ist also wesentlich als eine Pepsinwirkung aufzufassen; um diese innere Reifung zu beschleunigen, wäre es deshalb nützlich, die Backsteinkäse mit einem sehr pepsinreichen Lab herzustellen oder sogar der zu verkäsenden Milch Pepsin zuzusetzen. Möglicherweise spielt das Pepsin auch eine Rolle in den äußeren Schichten der Backsteinkäse, selbst neben den hier befindlichen weit kräftigeren Bakterien- oder Hefeenzymen, da diese von der an der Oberfläche gebildeten Buttersäure stark abgeschwächt werden. Vielleicht rührt die ganze Selbstverdauung, welche die äußeren Schichten von Käse 7 in der Tabelle XVII mit 4 ‰ Milchsäure (diese Schichten enthalten im natürlichen Zustande, wie Tabelle XII es zeigt, über 4 ‰ freie Säure) aufweisen, ausschließlich von Pepsin her, eine Annahme, die um so wahrscheinlicher ist, weil gar kein ZN gebildet wurde. Trotz dieser Annahme bin ich doch weit entfernt, dem Pepsin die Hauptrolle für die Reifung der Backsteinkäse zuzuteilen. Daß diese Reifung von außen gegen die Mitte des Käses allmählich fortschreitet und deshalb hauptsächlich von den Enzymen der an der Oberfläche sich entwickelnden Mikroorganismen verursacht werden muß, ist eine so in die Augen fallende Erscheinung, daß man gezwungen ist, alle eine andere Deutung zulassenden Experimente, so weit möglich, im Einklange mit dieser Thatsache zu erklären. Ich meine deshalb, daß der Reifungsvorgang der Backsteinkäse auf folgende Weise verläuft.

(Schluß folgt.)

Nachdruck verboten.

Ueber die Brauchbarkeit verschiedener Nährböden für die bakteriologische Wasseruntersuchung.

Von Dr. J. Thomann,

Assistenten am Laboratorium des Kantonschemikers, Bern.

Das schweizerische Lebensmittelbuch schreibt als Nährboden für die bakteriologische Untersuchung des Trinkwassers die Koch'sche Fleischgelatine vor, und man kann wohl sagen, daß dieselbe auf Grund dieser Bestimmung in allen schweizerischen Laboratorien, in denen nach dem genannten Buche gearbeitet wird, in Anwendung sei. Bei der gegenwärtig stattfindenden Revision des Lebensmittelbuches ist nun aber auch die Frage aufgeworfen worden, ob nicht ein gleichwertiger Ersatz zu finden wäre für die Koch'sche Gelatine, deren Darstellung im Vergleich zu den in neuerer Zeit von anderen Autoren vorgeschlagenen Nährmedien doch etwas umständlich und zeitraubend ist. Ohne an der Güte der Fleischwassergelatine zweifeln zu wollen, muß doch als längst empfundener Nachteil derselben auch noch der Umstand hervorgehoben werden, daß ihre chemische Zusammensetzung nie konstant ist, sondern innerhalb gewisser Grenzen Schwankungen unterworfen ist, je nach der Qualität des dazu verwendeten Ausgangsmaterials, des Fleisches. Wenn es möglich wäre, letzteres zu ersetzen durch Präparate von konstanter Zusammensetzung, wie Pepton, Fleischextrakt u. a., so wären wir auch eher imstande einen Nährboden zu erhalten, der wegen seiner stets gleichmäßigen Beschaffenheit einwandsfreie Vergleiche der Resultate der verschiedensten Laboratorien zuließe.

Die erwähnte Frage zu studieren wurde ich beauftragt, und es soll der Zweck dieser Arbeit sein, die Resultate anzugeben, die ich auf Grund zahlreicher vergleichender Untersuchungen der verschiedensten Wässer erhielt. Da ich die Kontrolle der Berner Trinkwasser auszuführen habe, fehlte es mir nicht an Material und an Gelegenheit, während längerer Zeit solche Untersuchungen zu machen, und ich legte auch Gewicht darauf, nicht immer bei allen Versuchen das gleiche Wasser, sondern solches von verschiedener Provenienz zu benutzen.

Bei der Auswahl der Ersatzmittel für das Fleisch ging ich nicht darauf aus, ein neues aufzufinden, sondern ich prüfte lediglich solche auf ihre Tauglichkeit, die von anderen Autoren vorgeschlagen wurden. Aus verschiedenen Gründen kam es mir auch darauf an, die Gelatine beizubehalten, denn wie ich schon in einer früheren Arbeit [1]) angegeben habe, ist unter Umständen die Anwendung von Agar-Agar bei Wasseruntersuchungen mit Schwierigkeiten verbunden. Abgesehen davon fand ich auch dazumal auf Agar stets weniger Kolonieen als

---

1) Untersuchungen über den gegenwärtigen Stand der Frage der Verunreinigung der Limmat durch die Abwässer der Stadt Zürich. (Zeitschr. f. Hyg. etc. Bd. XXXIII. 1900.)

auf Gelatine. Den von Hesse und Niedner[1]) empfohlenen Albumose-Agar prüfte ich nach diesen Erfahrungen nicht persönlich, es geht aber aus Versuchen von Abba[2]) hervor, daß auf diesem aus Albumose statt Fleischwasser dargestellten Nährboden sich eine um $^2/_3$ geringere Anzahl Kolonieen entwickelte, als auf der Gelatine. Zur Darstellung der letzteren empfiehlt Abba an Stelle des Fleischwassers Liebig'sches Fleischextrakt. Wir werden später an Hand der Resultate meiner Versuche sehen, ob die von Abba angegebene Modifikation der Nährgelatine die Koch'sche zu ersetzen imstande sei.

Bevor ich nun die einzelnen Versuchsserien angebe, möchte ich zunächst erwähnen, daß ich bei der Darstellung der Fleischwasser-Peptongelatine in bekannter Weise verfuhr, zugleich aber auch den Angaben Dahmen's[3]) folgte, indem ich der mit Natronlauge neutralisierten Gelatine 1,5 pro mille krystallisierte Soda zufügte. Ich habe auch hierüber in meiner oben citierten früheren Arbeit gesprochen und kann ich an dieser Stelle darauf verweisen. Mit dem so dargestellten Nährboden verglich ich zunächst die von Miquel für bakteriologische Wasseruntersuchungen angegebene Gelatine, die folgende Zusammensetzung hat:

Pepton	20,0	Gelatine	100,0
Kochzalz	5,0	Wasser	100 ccm
Holzasche	0,1		

Einen bestimmten Alkaligehalt giebt Miquel nicht an, um aber die Resultate mit denjenigen der Koch'schen Gelatine vergleichen zu können, neutralisierte ich die infolge der Holzasche schwach alkalisch reagierende Lösung genau mit Milchsäure und fügte dann ebenfalls 1,5 $^0/_{00}$ krystallisierte Soda hinzu. Die so erhaltene Gelatine filtriert nicht ganz so klar wie die Koch'sche, bildet aber im großen Ganzen keinen schlechten Nährboden für Wasseruntersuchungen. Allerdings enthält sie keine Phosphate, was zur Folge hat, daß Bac. fluorescens und pyocyaneus den fluorescierenden Farbstoff nicht bilden, worauf schon von Niederkorn[4]) aufmerksam gemacht wurde. Dieser Uebelstand läßt sich allerdings dadurch heben, daß man der Gelatine 2 $^0/_{00}$ Dikaliumphosphat (K_2HPO_4) zusetzt. Bei meinen zahlreichen vergleichenden Versuchen habe ich stets beobachtet, daß auf dieser Gelatine sämtliche Kolonieen sich bedeutend langsamer entwickeln als auf der mit Fleischwasser hergestellten. Dies wäre zwar, soweit es die verflüssigenden Arten betrifft, ein Vorteil, denn so wird es möglich, die Platten bedeutend länger aufzubewahren und zu zählen. Bei Wässern, die viel verflüssigende Arten enthielten, mußte mit der Zählung der Fleischwassergelatine-Platten oft schon am 4. oder 5. Tag, also lange bevor das Maximum der Kolonieen

1) Die Methodik der bakteriologischen Wasseruntersuchung. (Zeitschr. f. Hyg. etc. Bd. XXIX. 1898.)

2) Ueber die Notwendigkeit, die Technik der bakteriologischen Wasseruntersuchung gleichförmiger zu gestalten. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. XXXIII. 1900.)

3) Chemiker-Zeitg. Bd. XVI. 1892. No. 49.

4) Vergleichende Untersuchungen über die verschiedenen Varietäten des B. pyocyaneus und des B. fluorescens liquefaciens. (Inaug.-Dissert.) Freiburg (Schweiz) 1898.

erreicht war, abgebrochen werden, während die Peptongelatine von obiger Zusammensetzung erst viel später verflüssigt wurde und somit auch andere Arten Zeit fanden, sich zu entwickeln. Immerhin konnte ich auch konstatieren, daß verschiedene Arten, wie z. B. B. coli und B. typhi, nicht so gut auf diesem Nährboden gedeihen, und deshalb könnte ich ihn nicht als völlig ebenbürtig mit der Koch'schen Gelatine bezeichnen. Ich habe deshalb meine Versuche weiter ausgedehnt und bei einer weiteren Serie von Untersuchungen die Gelatine nach den Vereinbarungen deutscher Nahrungsmittelchemiker und diejenige nach der Vorschrift von Abba einer Nachprüfung unterzogen.

Im zweiten Heft der Vereinbarungen zur einheitlichen Untersuchung und Beurteilung von Nahrungs- und Genußmitteln für das Deutsche Reich [1]) finden wir zur Darstellung der für Wasseruntersuchungen dienenden Gelatine folgende Vorschrift:

2 Teile Fleischextrakt Liebig,
2 Teile trockenes Pepton Witte,
1 Teil Kochsalz

werden in 200 Teilen Wasser gelöst, die Lösung wird ungefähr $^1/_2$ Stunde im Dampfe erhitzt und nach dem Erkalten und Absetzen filtriert. Auf 900 Teile dieser Flüssigkeit werden 100 Teile feinster weißer Speisegelatine zugefügt, nach dem Quellen und Erweichen wird deren Auflösung durch (höchstens $^1/_2$-stündiges) Erhitzen im Dampfe bewirkt. Darauf werden der siedend heißen Flüssigkeit 30 Teile Normalnatronlauge zugefügt und jetzt tropfenweise so lange von dieser Natronlauge zugegeben, bis eine herausgenommene Probe auf glattem blauvioletten Lakmuspapier neutrale Reaktion zeigt. Nach $^1/_4$-stündigem Erhitzen im Dampfe muß die Gelatinelösung nochmals auf ihre Reaktion geprüft und, wenn nötig, die ursprüngliche Reaktion durch einige Tropfen Normalnatronlauge wieder hergestellt werden. Alsdann wird der so auf den Lakmusblau-Neutralpunkt eingestellten Gelatine $1^1/_2$ Teile krystallisierter Soda (eventuell auch 10 Raumteile N^1-Sodalösung) zugegeben, die Gelatinelösung durch weiteres $^1/_2$-stündiges Erhitzen im Dampfe geklärt und darauf filtriert.

Abba giebt auf Grund von zahlreichen Versuchen an, daß die einfachste Gelatine folgende Zusammensetzung haben könnte:

Konzentrierte Bouillon aus Liebig'schem Fleischextrakt	6 g
Gelatine	150 g
Destilliertes Wasser	1000 g

Man kocht die Mischung $^1/_2$ Stunde lang in einem Koch'schen Topf, alkalisiert mit konzentrierter Natriumkarbonatlösung, bis ein Tropfen alkoholischer 3-proz. Phenolphthaleïnlösung durch einen Tropfen Gelatine leicht rosa gefärbt erscheint. Alsdann fügt man pro Liter Gelatine 0,5 g Soda in Substanz hinzu, kocht 15 Minuten im Dampftopf und filtriert in gewohnter Weise.

Weder für die Gelatine nach der Vorschrift der deutschen Nahrungsmittelchemiker (die ich der Kürze halber als „deutsche

1) Berlin (J. Springer) 1899.

Gelatine bezeichnen will) noch für diejenige nach Abba ist ein Zusatz von Phosphaten vorgeschrieben, es wird also auch in diesen Nährmedien nicht möglich sein, Kolonieen von B. fluorescens oder von B. pyocyaneus sofort zu erkennen. Und doch ist es in manchen Fällen zum mindesten angenehm, das Vorkommen, namentlich der ersten Art, schon beim bloßen Beobachten der Kulturen feststellen zu können. Ich habe denn auch bei meinen Untersuchungen wenigstens der von Abba empfohlenen Gelatine stets 2 ‰ Dikaliumphosphat zugesetzt und um ihren Alkalinitätsgrad demjenigen der deutschen Gelatine und der Fleischwassergelatine gleich zu gestalten, neutralisierte ich auch hier zuerst mit Natronlauge, unter Anwendung von empfindlichem blauen Lakmuspapier als Indikator und fügte dann 1,5 ‰ Soda hinzu.

In der nachfolgenden Tabelle lasse ich die Resultate einiger vergleichender Untersuchungen folgen:

	Zahl der Kolonieen, die sich aus 1 ccm Wasser bei einer Temperatur von 18—20° C nach 6 Tagen entwickelt hatten		
	auf Fleischwassergelatine	auf Gelatine nach Abba	auf deutscher Gelatine
9. Juni 1900 (Wasser der Hochdruckleitung)	86	80	30
12. " " (" " ")	92	93	76
15. " " (" " ")	800	820	420
22. " " (" " ")	140	—	80
26. " " (" " ")	136	132	—
4. Juli " (" " ")	2900	3000	—
10. " " (" " ")	212	256	—
6. Juni " (laufender Brunnen a)	148	148	72
12. " " (Wasser aus einem Soodbrunnen)	3200	3300	2400
28. " " (Aarewasser)	1000	1500	700
8. Aug. " (")	420	540	350
17. " " (")	250	300	—
19. " " (laufender Brunnen b)	14	20	8
20. " " (" " c)	32	32	—
22. " " (" " d)	26	26	18

Wir sehen schon aus obigen Zahlen, daß in der Anzahl der Kolonieen kein bemerkenswerter Unterschied besteht zwischen der Koch'schen und der Abba-Gelatine, dagegen entwickelten sich auf deutscher Gelatine stets weniger Kolonieen. Dies gilt nicht nur für die in obenstehender Tabelle angegebenen Untersuchungen, sondern wurde auch bei allen anderen, die ich aus Raummangel nicht anführen kann, stets beobachtet. Die Verflüssigung ist bei diesen 3 Nährböden ungefähr gleich rasch. Stichkulturen von Bact. coli, B. typhi, Vibrio cholerae und Mäusetyphus entwickelten sich am schlechtesten auf deutscher Gelatine, etwas besser auf Abba-Gelatine, doch auch hier nicht so gut wie auf der Koch'schen. In der Folge ließ ich nun die deutsche Gelatine beiseite und versuchte die von Abba vorgeschlagene Gelatine zu verbessern. Dies gelang mir, indem ich derselben 1 Proz. Pepton und 0,5 Proz. Koch-

salz zusetzte. Auf diesem Nährboden war die Entwickelung der eben genannten pathogenen Arten nur wenig verschieden von derjenigen auf Fleischwassergelatine, ebenso erhielt ich bei den quantitativen Wasseruntersuchungen stets günstige Resultate, was folgende Tabelle beweisen wird:

	Keime pro Kubikcentimeter		Wachstumstage bei 18—20° C
	Koch'sche Gelatine	Gelatine n. Abba mit Pepton- und Kochsalzzusatz	
9. Aug. (Wasser vom laufenden Brunnen 1)	240	268	6
9. „ („ „ „ „ 2)	82	80	7
11. „ (Grundwasser der Aare)	25	33	7
16. „ („ „ „)	18	24	8
15. „ (Wasser der Hochdruckleitung)	70	82	6
17. „ (Aare(Fluß)-Wasser)	250	300	6
20. „ (Wasser vom laufenden Brunnen 3)	32	36	6
22. „ („ „ „ „ 4)	26	26	7

Auf Grund solcher Resultate schien mir dieser Nährboden für die bakteriologischen Wasseruntersuchungen in jeder Beziehung geeignet zu sein, so daß ich stets nur noch diesen verwende. Seine Darstellung wäre also folgende:

Fleischextrakt Liebig	6 g
Pepton Witte	10 g
Kochsalz	5 g
Dikaliumphosphat	2 g

werden in 1000 g destilliertem Wasser auf dem Dampfbad gelöst und dieser Lösung 100—120 g (je nach der Jahreszeit) Gelatine zugefügt. Nach Auflösung der letzteren wird mit Normalnatronlauge neutralisiert (Indikator empfindliches blaues Lakmuspapier) und der neutralen Flüssigkeit 1,5 g krystallisierte Soda (= 15 ccm einer 10-proz. Sodalösung) zugefügt. Nach $^1/_2$-stündigem Kochen im Dampftopf oder besser noch nach $^1/_4$-stündigem Erwärmen im Autoklaven auf 110° wird filtriert und in gewohnter Weise die Gelatine abgefüllt etc. etc.

Abgesehen davon, daß diese Gelatine in kürzerer Zeit herzustellen ist als die Fleischwassergelatine, hat sie vor letzterer entschieden auch den Vorzug einer konstanten Zusammensetzung und dürfte damit nach meinen Untersuchungen die eingangs erwähnte Frage gelöst sein.

Bern, 28. Oktober 1900.

Original-Referate aus bakteriologischen und parasitologischen Instituten, Laboratorien etc.

Nachdruck verboten.

Botanisches Museum, Abteilung für Pflanzenschutz, zu Hamburg.

I. Bericht 1898/99[1]).

Brick, C., Bericht über die Thätigkeit der Station für Pflanzenschutz im Jahre 1898. 4 p.

Brick, C., Das amerikanische Obst und seine Parasiten (1898/99). 34 p.

Die Station für Pflanzenschutz wurde vom Hamburgischen Staate errichtet, um die durch die Reichsgesetze vorgeschriebene Kontrolle über die eingeführten amerikanischen Pflanzen und Obstarten auf San José-Schildlaus und Reblaus hin auszuüben. Der Bericht giebt zunächst eine Uebersicht über die Einrichtung und die Thätigkeit der Station, sowie über die Warenmengen der über Hamburg eingeführten Obstsorten und die Anzahl der Pflanzencolli. Vom 5. Februar (dem Tage der Verordnung betr. die Einfuhr lebender Pflanzen und frischen Obstes aus Amerika) bis Ende Juni 1898 wurden eingeführt 8079 Fässer und 750 Kisten Aepfel, wovon 244 Kisten kalifornischer Aepfel mit San José-Schildlaus besetzt waren und wieder exportiert wurden. Im Winter 1898/99 betrug die Einfuhr über Hamburg an frischem amerikanischen Obste 29231 Fässer und 904 Kisten Aepfel, sowie 100 Fässer resp. Kisten Birnen, eine im Verhältnis zu früheren Jahren wegen der schlechten Ernte in Amerika außerordentlich geringe Summe. Die Verteilung nach Herkunft, Einfuhr in den einzelnen Monaten und auf die verschiedenen Apfelsorten wird aufgeführt, und die auf dem Obste gefundenen Parasiten werden unter Angabe der wichtigsten Litteratur und Exsiccatenwerke, ihrer augenfälligsten Unterscheidungsmerkmale, ihres Vorkommens und der Häufigkeit ihres Auftretens in den Obstsendungen besprochen.

Die aufgefundenen Schildläuse sind:

Aspidiotus ancylus Putn., Putnam's scale der Amerikaner, wurde auf Aepfeln aus Canada (häufig), den östlichen Vereinigten Staaten (weniger), Californien (selten), Chile und Tasmanien beobachtet.

A. Camelliae Sign. (A. rapax Comst), greedy scale der Amerikaner, findet sich in Europa (besonders Südeuropa), Amerika (an der Westküste von Washington bis Unterkalifornien, Guadeloupe, Neu-Mexico, Florida), Hawaii, Neu-Seeland, Australien und Ceylon. Auf amerikanischem Obste (Aepfeln, Birnen, Aprikosen, Weintrauben) wurde diese Schildlaus aus Californien und Chile eingeführt.

A. Forbesi Johns., Forbes' scale oder Cherry scale, wurde auf den Aepfeln aus den östlichen Vereinigten Staaten häufig, seltener auf denjenigen aus Canada nachgewiesen.

A. perniciosus Comst., San José-Schildlaus, ist vorhanden in

1) Aus dem Jahrbuche der Hamburgischen Wissenschaftlichen Anstalten. XVI, 2. u. 3. Beiheft. Hamburg 1899.)

den Vereinigten Staaten (mit Ausnahme von Maine, New-Hampshire, Wisconsin, Nord- und Süd-Dacota, Nebraska, Montana, Wyoming, Utah, Colorado, Kansas, Indian Territory), Canada (beobachtet in Britisch-Columbia und Unter-Ontario, an beiden Orten aber anscheinend wieder ausgerottet), Chile, Hawaii, Japan und Australien (Neu-Süd-Wales, West-Australien). In Europa ist sie bisher nicht aufgefunden. Die San José-Laus fand sich auf dem im Winter 1898/99 eingeführten frischen amerikanischen Obste auf 3 Fässern Aepfeln aus den östlichen Vereinigten Staaten, auf 557 Kisten und 7 Fässern Aepfeln und 1 Kiste Birnen aus Californien, auf 20 Kisten Aepfeln aus Oregon und 21 Fässern resp. Kisten Aepfel unbestimmter amerikanischer Herkunft.

Chionaspis furfurus (Fitch), scurfy bark louse, kommt in den Vereinigten Staaten und Canada vor. Sie ist besonders auf den Aepfeln und Birnen aus den Oststaaten vorhanden.

Mytilaspis pomorum Bché., Komma-Schildlaus, Miesmuschel-Schildlaus, oyster-shell bark louse, eine allgemein verbreitete Obstschildlaus. Sie fand sich auf den Aepfeln aus den östlichen Vereinigten Staaten, reichlicher aber auf denjenigen aus Canada und Californien, ferner außerordentlich zahlreich auf Aepfeln aus Chile und Tasmanien.

Ganz ausnahmsweise wurden einige andere Schildlausarten aus den Gattungen Aspidiotus, Parlatoria, Lecanium, Dactylopius, Eriopeltis etc. beobachtet.

Von Pilzen waren an dem eingeführten Obste am häufigsten:

Venturia inaequalis (Cooke) Aderh. f. Fusicladium dendriticum (Wallr.) Fuck., den bekannten Apfelschorf oder die Rostflecke der Aepfel erzeugend. Sehr häufig und vielfach stark schädigend ist der Pilz auf den Aepfeln aus Canada, häufig auch auf dem Obste aus den östlichen Vereinigten Staaten, selten auf den westamerikanischen Aepfeln. Die Früchte zeigen nicht nur die runden, von einem schwarzbraunen Pilzsaum umgebenen Rostflecke, sondern vielfach große schorfige Partieen mit tief eingerissenem Centrum. Bei einseitiger starker Infektion bleibt die eine Hälfte des Apfels im Wachstum stark zurück, während die andere sich normal ausbildet.

Leptothyrium Pomi (Mont. et Fr.) Sacc. überzieht mit seinem schwarzgrünen, auf der Cuticula wachsenden Mycel einzelne Partieen oder größere Stellen der Apfeloberfläche oder bildet mit seinen flachen, schildförmigen Fruchtkörpern kleine, runde, schwarze, wie Fliegenschmutz aussehende, ziemlich regelmäßig beisammen stehende Punkte („Fliegenflecke des Apfels) in kleinen oder größeren Partieen oder auf der ganzen Schale des Apfels. Ein besonderer Schaden, außer daß die Frucht unansehnlich wird, scheint durch ihn nicht hervorgerufen zu werden.

Die Besetzung der einzelnen Aepfel mit Schildläusen war im Allgemeinen eine schwache; sind doch diese Schildläuse, deren normaler Wohnsitz die Rinde der Zweige ist, als verirrte zu betrachten, welche bei der Fäulnis des abgefallenen Apfels dem Untergange geweiht sind. In einigen Fällen war allerdings eine stärkere Besetzung mit gewissen Arten zu konstatieren, so besonders mit

Aspidiotus perniciosus auf Newtown Pippin aus Californien, mit A. ancylus einige Male auf canadischen Aepfeln; auch Chionaspis furfurus zeigte sich zuweilen in reichlicher Menge. Mytilaspis pomorum war aus Nordamerika selten in vielen Exemplaren vorhanden, nur auf den chilenischen Aepfeln trat sie reichlich auf. Aspidiotus Camelliae fand sich in wenigen Fällen in ausgiebiger Besetzung auf californischen Aepfeln. A. Forbesi trat auf den Importen der Saison 1898/1899 nur einmal etwas stärker auf, während er auf den eingeführten ostamerikanischen Aepfeln des zweiten Teiles der vorhergehenden Saison weitaus der häufigste Parasit war. Dagegen wurden die pilzlichen Parasiten der Aepfel, Fusicladium dendriticum und Leptothyrium Pom mit seinem rußtauartigen Mycel, häufig in ziemlicher Menge beobachtet.

Die Schildläuse bevorzugen zur Festsetzung ganz besonders die Vertiefungen an der Frucht, die Blüten- und Stielgrube. Hauptsächlich finden sie sich in der Blütengrube, in dem Kessel und um die Krone herum; hier treten sämtliche genannten Schildlausarten auf, am seltensten Mytilaspis pomorum. Alte Weibchen und in ihrer Nähe junge Tiere mit Schild wurden in der Blütengrube beobachtet von Aspidiotus perniciosus und A. Camelliae; seltener sind alte Weibchen von A. ancylus und A. Forbesi, von denen hier erwachsene, aber noch nicht geschlechtsreife Tiere auf den eingeführten Aepfeln gefunden wurden. Auf der Peripherie des Apfels treten neben erwachsenen Tieren der San José-Schildlaus außerordentlich häufig auch die Jungen mit schwärzlichem Schilde auf; von anderen Arten finden sich auf dem Umfange der Frucht nur Mytilaspis und seltener Chionaspis. In der Stielgrube und deren Umgebung setzen sich fest Aspidiotus perniciosus, von welchem man zuweilen bis zu 100 junge Tiere und mehr hier findet, A. Camelliae, Mytilaspis pomorum und Chionaspis furfurus; seltener schon tritt A. ancylus und ganz ausnahmsweise A. Forbesi in der Stielgrube und um dieselbe herum auf. Den Fruchtstiel schließlich suchen als Anheftungsstelle Mytilaspis pomorum, die Jungen von Aspidiotus perniciosus und Chionaspis furfurus, die anderen Arten dagegen nur außerordentlich selten auf.

Rote Flecke, als Reaktion des Apfels auf das Saugen, finden sich bei den meisten Arten; sie treten im Verhältnis zu den zahlreichen beobachteten Schmarotzern aber nicht allzu häufig auf. Es hängt vielleicht mit der Sorte und wohl auch mit der Belichtung des Obstes zusammen. Häufiger und scharf umschrieben sind sie bei Aspidiotus perniciosus und Chionaspis furfurus. Seltener finden sie sich bei Aspidiotus Camelliae und A. ancylus; bei jenen schwach und allmählich am Rande verblassend, bei diesen oft deutlich und scharf.

Wie bei den Provenienzbestimmungen der Kleesaaten etc. die begleitenden Unkräuter, so geben auch bei den amerikanischen Aepfeln die anhaftenden Parasiten einen gewissen Anhalt über die etwaige Herkunft der Ware. Im allgemeinen läßt nach den bisherigen Erfahrungen ein häufigeres Auftreten von Aspidiotus ancylus

und Mytilaspis pomorum gegenüber den anderen Schildläusen auf eine Herkunft aus Canada oder den nördlichen Oststaaten, von A. Forbesi und Chionaspis furfurus aus den mittleren Oststaaten Nordamerikas, von A. Camelliae und Mytilaspis pomorum aus den westamerikanischen Staaten schließen. Die canadischen Aepfel sind außerdem zumeist reichlich mit Fusicladium dendriticum besetzt, während Leptothyrium sehr zurücktritt; die ostamerikanischen Aepfel weisen reichlicher Leptothyrium Pomi, weniger Fusicladium auf. Wohl zu beachten ist, daß Aspidiotus ancylus und Mytilaspis pomorum auch in den ostamerikanischen Staaten, A. Forbesi und Chinoaspis auch in Canada vorkommen, sie treten aber dort gegenüber den anderen Arten zurück.

Das getrocknete, ungeschälte amerikanische Obst, welches ebenfalls einer Untersuchung unterzogen wurde, stammt fast ausschließlich aus Californien. A. perniciosus wurde auf 84 Proz. der Birnen (in 5108 Kisten von 6079) und 71 Proz. der Nektarinen (in 442 Kisten von 620) nachgewiesen. Die Schildläuse sitzen bei den Birnen einerseits ganz besonders in der tiefen, kesselförmigen Blütengrube einzeln oder in ganzen Familien, alte und junge bis zu 20 und 50 Stück, andererseits finden sie sich einzeln, selten zu vielen beisammen, über die Oberfläche der Frucht zerstreut. Bei den Nektarinen bevorzugen die San José-Schildläuse nicht einen bestimmten Ort zum Festsetzen, sondern man findet sie auf der ganzen Oberfläche verteilt; häufig sitzen die Tiere auf großen, dunkelbraunen, trockenen Flecken, die anscheinend durch das Saugen bewirkt werden, und zuweilen bildet sich, besonders bei starker Besetzung dieser Flecken, in diesen Stellen Gummifluß, so daß Löcher in der Frucht entstehen. Außerdem fanden sich auf den Birnen A. Camelliae und Mytilaspis pomorum, auf den Aprikosen vereinzelt A. Camelliae und Lecanium pruinosum. Auf chilenischen Rosinen wurde A. Camelliae und A. Nerii Bché. beobachtet. Auf Pflaumen, Pfirsichen und Kirschen wurden Parasiten nicht aufgefunden.

Die sämtlichen untersuchten Schildläuse von dem getrockneten Obste waren infolge der Behandlung der Ware (Bleichung mit schwefficher Säure, heiße Wasserdämpfe, Trocknung etc.) tot. Die Entscheidung, ob eine Schildlaus lebend oder tot ist, ist zumeist nicht ganz einfach. Ist das Exemplar verpilzt (Sphaerostilbe coccophila Tul.?), von Schlupfwespen besetzt oder braun und trocken, so wird natürlich kein Zweifel an dem Tode des Tieres sein. In diesem Stadium befinden sich die meisten auf getrocknetem Obste aufgefundenen Exemplare von Aspidiotus perniciosus auf Birnen und Nektarinen. Zeigt das Tier aber noch gelben Körperinhalt, wie z. B. manchmal A. Camelliae auf Aprikosen, so ist die Entscheidung ohne weitere Hilfsmittel als das Mikroskop eine sehr unsichere. Um auch diese Tiere auf ihren lebenden oder toten Zustand zu prüfen, wurde ein Verfahren angewendet, welches in der Hauptsache auf dem Gedanken beruht, daß die Kerne abgestorbener Zellen sich mit indifferenten Farbstofflösungen färben, während lebende Kerne den Farbstoff nicht aufnehmen. Zu diesem Zwecke wurde eine

1—5-proz. Salzlösung, z. B. von Salpeter, unter Zusatz von wenig Methylenblau hergestellt und auf die unter dem Mikroskop gequetschten Tiere, aus welchen der Leibesinhalt heraustrat, direkt oder vom Rande des Deckglases aus einwirken gelassen. Die Reaktion der herausgetretenen einzelnen Zellen hinsichtlich der Aufnahme des Farbstoffes ergab dann die Entscheidung. Diese Methode lieferte in vielen Fällen gute Resultate.

Reh, L., Untersuchungen an amerikanischen Obstschildläusen. 19 p.

Die Untersuchungen erstreckten sich auf die Verteilung der Schildläuse über die einzelne Frucht, auf das Alter und Geschlecht der gefundenen Schildläuse, auf Leben und Tod derselben und auf das gemeinsame Vorkommen mehrerer Arten. Die Schildläuse suchen nicht immer, wie häufig angenommen wird, die vor Licht, Regen und anderen Witterungseinflüssen geschützten Stellen auf, sondern ihre Verteilung an der Frucht regelt sich höchst wahrscheinlich nach ihrer Empfindlichkeit gegen diese Einflüsse. Aspidiotus ancylus und A. Forbesi scheinen sehr empfindlich, Chionaspis furfurus weniger, A. perniciosus noch weniger und A. Camelliae und Mytilaspis pomorum ganz unempfindlich zu sein. Von einer Reihe untersuchter Exemplare von A. perniciosus waren $^1/_3$ lebend und $^2/_3$ tot und von diesen ungefähr die Hälfte ausgefressen oder verpilzt.

Angestellte Versuche ergaben, daß unter günstigen Verhältnissen die von ihrem Platze losgelösten Schildläuse ohne Schild ca. eine Woche und die wieder mit dem Schilde bedeckten Läuse annähernd 3 Monate und bei Abhebung des Schildes von dem festsitzenden Parasiten noch länger leben können. Auf abgeschälten Apfelschalen erhalten sich die Tiere 8—14 Tage, auf faulenden Aepfeln annähernd 3 Wochen am Leben. Erstickungsversuche unter Wasser zeigten, daß die Abhängigkeit der Schildläuse von der Zufuhr frischer Luft eine geringe ist; wahrscheinlich kann die unter dem Schilde eingeschlossene Luft für längere Zeit zur Atmung genügen. Von Gasen wirkten warme Alkoholdämpfe und Chloroformgas rasch tödlich, schweflige Säure tötete die Läuse meistens; unempfindlich scheinen sie dagegen gegen Cyankalium- und Formalingas zu sein. Eine Temperatur von 50 ^{0} und etwas mehr wird eine Zeit lang gut ertragen, durch heiße Wasserdämpfe aber werden die Schildläuse bald getötet.

May, W., Ueber die Larven einiger Aspidiotus-Arten. 3 p. mit 4 Fig.

Die Larve von A. perniciosus zeichnet sich gegenüber denjenigen von A. ancylus und A. ostreaeformis durch zwei sehr kleine Platten im ersten Einschnitte des Hinterleibsrandes aus. Die Larve von A. Camelliae besitzt solche im ersten und zweiten Einschnitte. Die Höckerchen zwischen den Mittellappen sind bei A. perniciosus sehr klein, oben etwas konkav, bei A. ancylus sehr klein, oben konvex, bei A. Camelliae länger und mit treppenförmigem Absatze auf der Außenseite versehen.

May, W., Ueber das Ventralschild der Diaspinen. 3 p.

Ueber die Bildung und Zusammensetzung des Bauchschildes der Diaspinen gehen die Ansichten der Autoren auseinander. Nach den Untersuchungen des Verf.'s hat das Ventralschild mit den Häutungen des Tieres nichts zu thun, sondern ist ein von der Schildlaus ausgeschiedenes, sehr zartes, weißes Wachshäutchen, welches stets vorhanden ist — auch bei der San José-Schildlaus. Es hängt mit dem Dorsalschild mehr oder weniger fest zusammen, dergestalt daß dessen Rand etwas über das Ventralschild hinausgreift.

Brick (Hamburg).

Referate.

Hamilton, G., Einiges über Herstellung von Käsen aus pasteurisierter Milch. (Milchztg. 1900. No. 10.)

Bei der Käsebereitung aus erhitzter Milch handelt es sich im wesentlichen um zwei Fragen, nämlich erstens darum, ob es möglich ist, Milch so zu pasteurisieren resp. hoch zu erhitzen, daß das Caseïn gut zu fällen ist und zur Käsebereitung tauglich bleibt und zweitens um die Leitung der Gärung unter Benutzung der für die verschiedenen Sorten richtigen Organismen.

Der vorliegende Aufsatz beschäftigt sich mit der ersten dieser Fragen, soweit es sich um Quark, Sauermilch und Backsteinkäse handelt. Ein günstiges Resultat erzielte Verf. auf folgendem Wege: Milch wird auf 102 ° erhitzt, dann mit selbstgesäuerter Milch oder mit Säurereinkulturen versetzt und bei 30 ° stehen gelassen, bis der erforderliche Säuerungsgrad erreicht ist. Dies stellt man in der Weise fest, daß man eine Probe in einem kleinen Gefäße bei 36 ° hält und den Inhalt beständig umrührt, bis eine vollständige Ausscheidung des Caseïns eintritt. Die so gewonnene Sauermilch hat nicht das Aussehen der auf gewöhnlichem Wege dick gewordenen Milch, sondern bleibt seimig. Wird das Caseïn frisch gefällt, so bleibt es trocken und hart, überschreitet die Säuerung die normalen Grenzen, so erhält man einen nassen, weichen Teig. Dieser so hergestellte Quark giebt einen feineren Sauermilchkäse als derjenige aus unerhitzter Milch, und da auch Butter aus hocherhitzter Milch in guter Qualität herzustellen ist, macht H. den Vorschlag, die Erhitzung der Vollmilch auf 102 ° ein für allemal vorzuschreiben und damit einerseits den Vorschriften des Reichsgesetzes bei Ausbruch von Maul- und Klauenseuche von vornherein zu genügen, andererseits der Ausbreitung der Tuberkulose entgegenzuarbeiten.

Vorher wäre freilich die Möglichkeit, auch andere Käsesorten aus hoch erhitzter Milch darzustellen, noch eingehender zu prüfen. Für Backsteinkäse hat dies Verf. bereits gethan und zwar ebenfalls mit günstigem Erfolge. Hierzu erhitzt man Magermilch auf 102 °, kühlt sie sofort auf 2 ° ab und fügt 10 Proz. frische Buttermilch zu. Diese Mischung wird auf 31 ° angewärmt, mit Labessenz versetzt

und bis zur Schnittreife des Bruches stehen gelassen. Der Bruch ließ sich vorzüglich bearbeiten und der daraus gewonnene Käse ließ nichts zu wünschen übrig.

Sollte der Wunsch des Verf.'s, daß alle Milch in den Molkereien auf 102° erhitzt werden muß, in Erfüllung gehen, so wäre es eine unerläßliche Vorbedingung, daß die in Gebrauch befindlichen Pasteurisierapparate einer eingehenden Prüfung unterzogen würden, da, wie Lehmann und der Ref. nachgewiesen haben, durchaus nicht alle Milch, die einen gewöhnlichen Apparat durchläuft, auf die Temperatur kommt, die das Thermometer anzeigt. Appel (Charlottenburg).

Will, H., Gerbstoffreaktionen an Hefezellen und deren Beimengungen aus gehopfter Würze. [Mitteilungen der wissenschaftlichen Station für Brauerei in München.] (Zeitschr. f. d. gesamte Brauw. 1900. No. 23 und 24. p. 325—329, 341—346.)

Das eventuelle Vorkommen von Gerbstoff in Hefezellen würde nach mancher Richtung hin von Interesse sein. Von vornherein war dasselbe nicht ausgeschlossen, da der Gerbstoff im Substrat, der gehopften Bierwürze, den Hefezellen dargeboten wird.

Die wenigen Literaturangaben über das Vorkommen von Gerbstoff in den Hefezellen lauten sehr verschieden. So giebt Jörgensen (Die Mikroorganismen der Gärungsindustrie. 4. Auflage. 1898. p. 5) an, daß die Zellen von S. cerevisiae im ersten Stadium der Gärung eine merkliche Menge von Gerbsäure enthalten.

O. Naumann dagegen (Ueber den Gerbstoff der Pilze. Dissertation Erlangen. 1895) kommt zu einem den Angaben bei Jörgensen widersprechenden Resultat. Die von ihm untersuchten Saccharomyceten waren folgende: S. cerevisiae (aus Bier), S. anomalus, S. Ludwigii und S. apiculatus und Löwenbräu-Unterhefe aus München (letztere 4 Hefen auf „harzfreiem" Boden gezogen).

Aus den Angaben Naumann's ist nicht ersichtlich, in welchem Stadium, ob im Entwicklungs- oder Ruhestadium, er die Hefen untersucht hat.

Um Klarheit zu schaffen, wurden daher bei einer größeren Anzahl von Hefen (27 Hefen und 1 Mycoderma-Art) in drei verschiedenen Stadien Gerbstoffreaktionen angestellt. Die verschiedenen Stadien waren folgende:

1) Erste sichtbare Gärungserscheinungen. Die Zellen befinden sich in lebhaftester Vermehrung. Jugendstadium der Zellen.

2) Höhepunkt der Gärungserscheinungen. Die Vermehrung ist im wesentlichen beendigt.

3) Gärung beendigt. Ruhestadium.

Diese drei Stadien sind auch morphologisch charakterisiert (Vergl. H. Will, Die Hefezellen, deren Aussehen und Beschaffenheit in den verschiedenen Stadien der Entwickelung und des Zerfallens unter dem Mikroskop. Allgem. Brauer- und Hopfen-Zeitung. 1892. No. 67. p. 1088.)

Während man leicht von den unter- und obergärigen Bierhefen sowie von den meisten wilden Hefen Zellen von ziemlich gleichmäßiger Beschaffenheit aus den drei skizzierten Entwickelungsstadien

in größerer Menge erhalten kann, bietet dies bei den Anomalus-Arten, bei Mycoderma und S. membranaefaciens Schwierigkeiten. Deshalb mußte hier das erste zu untersuchende Stadium etwas weiter hinausgeschoben werden.

Auch bei S. Ludwigii ist es nicht so leicht, die ersten Entwickelungsstadien in großer Menge zu erhalten.

Vom Schiz. Pombe wurden in einem Falle vier und in einer zweiten Versuchsreihe drei Stadien untersucht.

Die zu untersuchenden Entwickelungsstadien wurden im gegebenen Moment durch Filtration von der Würze getrennt.

Bei der Auswahl der Reagentien stützte sich Naumann auf die ebenfalls im botanischen Inststut Erlangen von R. Büttner ausgeführte Arbeit „Ueber Gerbstoffreaktionen in der lebenden Pflanzenzelle" (Dissertation Erlangen. 1898.).

Büttner hat die von ihm verwendeten Reagentien zum Gerbstoffnachweis auf ihre Empfindlichkeit geprüft, um die Reaktionsgrenze festzustellen. Verf. hat diese Untersuchungen nachgeprüft und zum größten Teil Uebereinstimmung erhalten.

Nach mehrfachen Vorversuchen mit verschiedenen Reagentien wurden von den Eisenverbindungen im Hauptversuch ausschließlich folgende in der angegebenen Konzentration angewendet.

1) Ferrum sulfucicum 1 : 100,

2) Ferrum sesquichloratum (soweit als möglich mit Ammoniak neutralisiert) 1 : 1000,

3) Tinctura ferri acetici.

Die Reagentien wurden sehr oft erneuert.

Die Reagentien 2 und 3 kamen aus zwei Gründen in so starker Verdünnung zur Anwendung. Erstens wird bei den schon ursprünglich gefärbten Reagentien, wenn dieselben innerhalb einer gewissen Verdünnung angewendet werden, die Reaktionsfarbe reiner. Zweitens wirken konzentriertere Lösungen schädigend auf die Hefezellen, besonders auf die im ersten Entwickelungsstadium befindlichen, ein.

Uebrigens ist der Zellinhalt nicht aller Hefenarten gleichmäßig empfindlich gegenüber den gleichen Reagentien; beispielsweise reagierten im allgemeinen die obergärigen Bierhefen viel stärker als die untergärigen.

Im Jahre 1898 machte A. Seyda (Chemiker-Zeitg. Bd. XXII. 1898. p. 1085) auf eine empfindliche Gerbsäurereaktion aufmerksam. Eine sehr stark verdünnte wässerige Lösung von Gerbsäure mit einer stark verdünnten Lösung des Goldchloridsalzes (Auronatrium chloratum) versetzt, nimmt sehr bald bei gewöhnlicher Temperatur eine purpurartige, in äußerst verdünnten Schichten noch erkennbare Färbung an. In der That ist die Reaktion, wie schon J. Brand in einem Referat über Seyda's Gerbstoffreaktion bemerkt (Zeitschr. f. d. gesamte Brauw. 1900. No. 9. p. 128) eine ungemein scharfe. Seyda hat auch bereits darauf hingewiesen, daß diese Farbenreaktion eine willkommene Bereicherung der mikrochemischen Reagentien bilden dürfte. Verf. hat deshalb, nachdem ihn die bei Anwendung der Eisensalze erhaltenen Resultate wenig befriedigten, den Versuch mit sämtlichen Hefen unter Anwendung von Goldchloridnatrium wiederholt.

Aus einer Reihe von Vorversuchen hatte sich ergeben, daß eine Lösung in der Stärke von 0,12 Proz. am besten wirkt.

Der Wirkungskreis der Goldchloridlösung ist noch nicht bekannt, jedenfalls ist sie kein spezifisches Reagenz auf Gerbstoff.

J. Brand hat bereits (l. c.) darauf hingewiesen, daß auch eine Reihe von anderen reduzierenden organischen Verbindungen, z. B. Hydrochinon, Pyrogallussäure etc. in gleich hohem Maße die Farbenreaktion geben.

Nach den Beobachtungen des Verf.'s verhalten sich einige der in gehopfter Würze und Bier vorkommenden Körper gegenüber Goldchloridlösung in folgender Weise: Furfurol reduziert sehr rasch, Maltol sofort; Maltose und Dextrose reduzieren schon bei gewöhnlicher Temperatur, wenn auch ungemein langsam, beim Erhitzen sehr stark; Dextrine, aus Bier durch Alkohol gefällt und in Wasser gelöst, reduzieren nicht, dagegen Oxalsäure und oxalsaure Verbindungen, wie oxalsaurer Kalk, sehr rasch, Milchsäure bei gewöhnlicher Temperatur nur schwach. Alkohol und Hopfenharz reagieren auf Goldchloridlösung nicht.

Nach allen Beobachtungen neigt sich Verf. dazu, die bei seinen Untersuchungen verhältnismäßig rasch eingetretenen prächtigen Farbenreaktionen wesentlich auf die Gegenwart von Gerbstoff zurückzuführen.

Die mikrochemische Reaktion mit der Goldchloridlösung läßt in Verbindung mit derjenigen der Eisensalze, da dieselbe im wesentlichen negative Resultate ergeben hat, eine sichere Schlußfolgerung zu und bildet eine wertvolle Ergänzung der Reaktion mit den Eisensalzen.

Der Gang der Untersuchung war folgender: Kleine, auf einer weißen Porzellanplatte stehende Glasschälchen wurden mit 4—5 ccm der Reagentien gefällt und in letzteren je 2 starke Platinösen voll der abfiltrierten Hefen verteilt. Nach kurzer Zeit setzte sich die Hefe mehr oder minder gleichmäßig zu Boden. Die abgesetzte Hefe bildet verschiedene Schichten; obenauf liegt unter den gegebenen Verhältnissen eine lockere, flockige und leicht bewegliche Schicht, welche wesentlich die verschiedenen Beimengungen, die dunkler gefärbten Eiweißausscheidungen enthält, während zu unterst die Hefezellen als mehr oder minder kompakte hellgefärbte Masse liegen.

Im allgemeinen konnte an den mit den Eisenreagentien behandelten Präparaten nach 1—2-stündiger Einwirkung eine mehr oder minder deutliche Verfärbung, ein Dunklerwerden beobachtet werden, jedoch erstreckte sich die dunklere Färbung wesentlich auf die leichten, flockigeren Gemengteile der oberen Schicht, während die untere, die Hefe enthaltende Schicht ihre Farbe kaum oder nur wenig geändert hatte.

In erster Linie scheinen die an den Hefezellen durch die Einwirkung der Reagentien hervorgerufenen Veränderungen physikalischer Natur zu sein, hervorgerufen durch die Verdichtung des Zellinhaltes und die innerhalb des letzteren stattfindende Umlagerung.

Bei den mit einer Lösung von Ferrum sulfuricum behandelten Hefeproben ist die flockige, obere Schicht meist deutlich sichtbar graugrün gefärbt.

Bei der Goldchloridlösung ist unter allen Umständen die nach 1—2-stündiger Einwirkung sichtbar werdende Färbung eine sehr deutliche und scharf ausgesprochene. Vielfach macht sich zuerst eine leichte rosarote Färbung geltend, die später nach rot- bis blauviolett übergeht, oder die Färbung besitzt von Anfang an einen blauvioletten Farbenton. Unter allen Umständen nimmt die Farbe mit der Zeitdauer der Einwirkung des Reagens an Intensität zu.

Auch hier wieder traten die Färbungserscheinungen in erster Linie an der oberen leichten und flockigen Schicht auf. Die untere Hefeschicht ist unverändert oder zeigt nur einen leichten Farbenton.

Der Beurteilung, ob eine Farbenreaktion stattgefunden habe oder nicht, tritt vielfach der Umstand hinderlich entgegen, daß sich in den Hefeklümpchen fein verteilte und auf den Zellen abgelagerte Niederschläge befinden. Zum Teil sind dieselben schon ursprünglich vorhanden, teils entstehen sie erst durch die Behandlung mit den Reagentien. Hierzu treten dann noch die deutlicher, bei Anwendung von Goldchloridlösung rot- bis blauviolett gefärbten Eiweißhäutchen.

Bei der Goldchloridlösung waren einzelne Zellen äußerlich an verschiedenen Stellen verschieden intensiv, zuweilen nur zur Hälfte gefärbt. Nicht selten wurde diese Erscheinung bei den wesentlich auf der Flüssigkeitsoberfläche sich entwickelnden Hefenarten wie bei S. anomalus und auch bei Mycoderma beobachtet, deren Zellen von einer „Lufthülle" umgeben sind, wenn den noch auf der Goldchloridlösung schwimmenden Hautpartikelchen Präparate entnommen wurden. Möglicherweise steht die Reduktion des Reagens mit der besonderen Beschaffenheit der Membran und deren „Lufthülle" in Zusammenhang.

Unter Erwägung aller Umstände ist Verf. auf Grund seiner eingehenden Beobachtungen zu dem Schluß gekommen, daß die in frisch geimpften Würzekulturen neu gebildeten, lebenden Hefezellen in keinem Stadium im Zellinhalt weder mit den Eisensalzen noch mit der Goldchloridlösung eine Gerbstoffreaktion zeigen.

Tote Zellen färben sich unter Umständen häufig mit Goldchloridlösung intensiv blauviolett; neben diesen fanden sich auch noch solche mit weniger intensiver Färbung vor. Unter letzeren befanden sich einerseits Zellen, welche zu einer Zeit absterben, als sie noch dicht mit Glykogen erfüllt waren, andererseits solche, deren Inhalt bereits weiter reduziert worden war und schon ein oder mehrere Oelkörperchen enthielt. Da nicht alle Zellen mit doppelten Konturen die Reaktion zeigten, scheint der Zellinhalt nur in einem gewissen Stadium sich mit dem Gerbstoff der Würze zu verbinden. Zellen, deren Inhalt schon sehr weit reduziert ist, aber noch plasmatische, auf Jod reagierende Bestandteile enthält, reagierten auf Goldchloridlösung nicht mehr oder höchstens sehr schwach.

Die Zahl der auf Goldchloridlösung noch reagierenden Zellen war in den weitaus meisten Fällen eine geringe.

Bei S. Ludwigii fanden sich ungemein reichlich — so reichlich wie in keiner der untersuchten Hefen — sehr intensiv blauviolett

gefärbte Zellen vor. Besonders auffallend waren hier die zum Teil ebenfalls intensiv gefärbten Sporen.

Die Hauptfärbung der mit Goldchloridlösung und den mit den Eisensalzen behandelten Präparaten kommt also, wie die Beobachtung unter dem Mikroskop ergab, den Beimischungen von Eiweißausscheidungen und nicht der Hefe zu. Gleichzeitig ergab sich aber auch, daß nicht alle Beimengungen, wenigstens nicht auf die Goldchloridlösung reagierten.

Die klare und prachtvolle Färbung, welche an einzelnen der Beimengungen der in gehopfter Bierwürze kultivierten Hefen und in den verschiedenen Ausscheidungen aus letzterer auftritt, hat zu nicht unwichtigen Differenzierungen dieser Beimengungen geführt; das Reagens erwies sich auch nach dieser Richtung hin als ein sehr wertvolles. Näher soll auf die eingehenden in dieser Richtung angestellten Beobachtungen nicht eingegangen werden und sei hiermit auf die Originalmitteilung verwiesen. Autorreferat.

Lagerheim, G., Mykologische Studien. II. Untersuchungen über die Monoblepharideen. (Meddelanden från Stockholms Högskola. No. 199. Bihang till K. Svenska Vet.-Akad. Handlingar. Bd. XXV. Afd. III. No. 8. Mit 2 Tafeln.)

Nachdem Cornu 1871 und 1872 auf Grund von zwei auf in Wasser faulenden Pflanzenresten gefundenen Formen die Gattung Monoblepharis und damit einen neuen Typus der Saprolegniaceen aufgestellt hatte, gelang es erst 1895 Thaxter, wieder einige Vertreter dieser Gattung in der Natur aufzufinden, und so die Gesamtzahl der bekannten Arten auf 4 zu bringen. Ursprünglich durch einen Zufall aufmerksam geworden, hat Lagerheim die Zahl derselben um weitere 3 vermehren und zugleich den Nachweis liefern können, daß die Monoblepharideen, wenigstens um Stockholm, recht häufig und leicht zu finden sind. Ihre Vegetationszeit scheint in das Frühjahr und den Herbst zu fallen. Sie bilden auf oberflächlich in Wasser schwimmenden Pflanzenteilen kleine, bis ca. 5 mm hohe Rasen, die zunächst weiß, später, wenn fruchtend, bräunlich sind. Sie traten besonders gern auf, wenn Verf. dünne, von Flechten oder Pyrenomyceten besetzte Baumzweige, die den Winter über im Wasser gelegen hatten, im Frühjahr in Kultur nahm, und zwar an den von der Rinde entblößten Stellen.

Bis zur Bildung von Fortpflanzungsorganen sind die von Lagerheim beobachteten Monoblepharideen streng einzellig. Die Membran giebt die Cellulosereaktion nicht oder, wenn älter, wenig deutlich. Der Bau des Protoplasten ist schaumig. Die Zellkerne sind sehr zahlreich und gleichen in ihrem Bau denen der Saprolegnieen. Von Fortpflanzungsorganen werden Zoosporangien, Oogonien und Antheridien gebildet. In den ersteren, die meist terminal stehen, werden zahlreiche einkernige, mit einer bei der Bewegung nachgeschleppten Cilie versehene Zoosporen gebildet. Bei Monoblepharis brachyandra Lagerh. treten außerdem Gemmen auf. Die Antheridien stehen wie die Zoosporangien endständig und bringen zahlreiche, den Zoosporen gleich gestaltete Spermatozoiden hervor. Auch die Oogonien

sind meist terminal und bilden nie mehr als eine Oosphäre. Nach der Kopulation mit dem Spermatozoid, die näher beschrieben wird, tritt die befruchtete Oosphäre aus der Oogoniumöffnung heraus, nimmt nach einer Periode amöboider Gestaltveränderungen wieder Kugelform an und umgiebt sich mit einer Membran, deren Exine kräftige Warzen besitzt. Unbefruchtete Oosphären bleiben im Oogon liegen, umgeben sich aber in dieser ebenfalls mit einer Membran. Die Oosporen keimen erst nach mehrmonatlicher Ruhezeit mit einem Keimschlauch, der aus einem Riß der Exine hervorwächst.

Auf Grund seiner neuen Beobachtungen, sowie derer von Cornu und Thaxter unterscheidet Lagerheim in der Familie der Monoblepharideen 2 Gattungen, Monoblepharis Cornu, charakterisiert durch eincilige Zoosporen und dadurch, daß bei der Bildung von Zoosporen und Oosphäre der gesamte Inhalt des Sporangiums verwendet wird, und Diblepharis Lagerh., umfassend die beiden von Thaxter neu beschriebenen Formen mit zweiciligen Zoosporen und Zoosporangien und Oogonien, deren Inhalt nur teilweise zur Bildung von Zoosporen und Oosphäre dient. Die Gattung Monoblepharis zerfällt dann in 2 Untergattungen, Eumonoblepharis und Exoospora. Zu ersterer, bei der die Oospore im Oogon liegen bleibt, gehört nur die Cornu'sche M. sphaerica, zu letzterer, bei der die befruchtete Oosphäre das Oogon verläßt, außer der M. polymorpha Cornu, von der Lagerheim eine neue Form var. macrandra beschreibt, die neue Art M. brachyandra Lagerh., während bei den beiden anderen neu beobachteten Formen (M. regignens und M. ovigera) die Stellung infolge Fehlens von Oogonien und Antheridien zur Zeit nicht zu bestimmen ist.

Behrens (Karlsruhe).

Lagerheim, G., Ueber Lasius fuliginosus und seine Pilzzucht. (Entomologisk Tidskrift. 1900.)

Schon Fresenius hat im Jahre 1852 in den aus Holzteilen, Sandpartikeln u. dergl. aufgebauten Wänden des Nestes von Lasius fuliginosus einen Pilz gefunden, den er als Septosporium myrmecophilum bezeichnete, und der in Gestalt brauner, perlschnurähnlicher Fäden die Wände durchsetzt und an den Flächen zu langen braunen Borsten auswachsen kann. Spätere Forscher haben die Konstanz des Vorkommens dieses Pilzes bestätigt und auch bereits die Frage nach der Rolle des Pilzes aufgeworfen, die durch die Beobachtungen Möller's, Holtermann's u. s. w. über den Pilzbau tropischer Ameisen und Termiten in einem neuen Lichte erscheint. Lagerheim hat den Pilz genauer untersucht und auch sein Verhältnis zu den Ameisen bis zu einem gewissen Grade aufgehellt.

Er stellt zunächst fest, daß der Pilz in dem von ihm untersuchten Ameisennest mit großer Wahrscheinlichkeit in Reinkultur vorhanden war. Auf Pflaumendekokt trieben die im Rasen auf den Wandflächen gefundenen zweizelligen, an die von Cladothrichum microsporum Sacc. erinnernden Conidien einen Keimschlauch. Ebenso wuchsen bei Einsaat von Wandstücken sowohl die in der

Wand befindlichen torulösen Hyphen wie die auf der Wand sitzenden Haare aus und bildeten schließlich eine dunkelgefärbte lederige Haut mit oberseitigem dunkelbraunen Flaum. Die Bildung der zweizelligen Conidien wurde allerdings in den künstlichen Kulturen, die nur winzige, farblose, einzellige Conidien hervorbrachte, nicht beobachtet. Trotzdem reiht Lagerheim den Pilz ohne Bedenken in die Gattung Cladothrichum, vorläufig als Cladothr. myrmecophilum (Fres.), ein.

Verf. sah Ameisen, die er in einem größeren Gefäße hielt, gelegentlich an dem Flaumüberzug der Kammerwände nagen.

Daß ein großer Teil der Pilzhaare stets abgebrochen oder abgebissen ist, hat Fresenius schon beobachtet und wird vom Verf. bestätigt. Aus der obersten unverletzten Zelle wächst in solchen Fällen eine dünnwandige, farblose und plasmareiche Zelle hervor, die wohl als Ameisennahrung dienen könnte. Außerdem aber dürfte das Mycel, das nach allen Seiten hin die Kammerwände des Nestes durchwächst, und dessen Außenwand verschleimt ist, auch zum Binden des Baumaterials (Holztrümmer, Steinchen) beitragen. Zur Ernährung des Pilzes dient neben dem morschen Holz der Kammerwände jedenfalls auch das Sekret der Ameisen, durch welches das Baumaterial zusammengekittet wird, da der Pilz auch in den nur aus Sand gebauten, also jeder organischen Substanz außer dieser Kittsubstanz entbehrenden Wandpartieen nicht fehlt.

Lagerheim hält es nach allem für wahrscheinlich, daß auch Lasius fuliginosus zu den pilzzüchtenden Ameisen gehört.

Behrens (Karlsruhe).

Neue Litteratur,

zusammengestellt von

San.-Rat Dr. Arthur Würzburg,
Bibliothekar im Kaiserl. Gesundheitsamte in Berlin.

Allgemeines über Bakterien und Parasiten.

de Bary's, A., Vorlesungen über Bakterien. 3. Aufl., von W. Migula. gr. 8°. VI, 186 p. m. 41 Fig. Leipzig (Wilhelm Engelmann) 1900. 3,60 M.

Jahresbericht über die Fortschritte in der Lehre von den pathogenen Mikroorganismen, umfassend Bakterien, Pilze und Protozoën. Bearb. u. herausgeg. von P. v. Baumgarten u. F. Tangl. Jahrg. XIV. 1898. 2. Hälfte. gr. 8°. XII u. p. 385—1055. Braunschweig (Harald Bruhn) 1900. 16 M.

Naunyn, P., Die Entwickelung der neueren Medizin mittels Hygiene und Bakteriologie im 19. Jahrhundert. Centennialvortrag. gr. 8°. 21 p. Jena (G. Fischer) 1900. 1 M.

Untersuchungsmethoden, Instrumente u. s. w.

Epstein, St., Ein neuer Thermoregulator. (Centralbl. f. Bakteriol. etc. I. Abt. Bd. XXVIII. 1900. No. 16. p. 503—504.)

Gosio, B., Su un nuovo metodo di preparazione degli ifomiceti a scopo diagnostico. (Riv. d'igiene e san. pubbl. 1900. No. 21. p. 735—738.)

Kaiser, W., Die Technik des modernen Mikroskopes. Ein Leitfaden zur Benützung moderner Mikroskope für alle praktischen Berufe im Hinblick auf die neueren Er-

rungenschaften auch auf dem Gebiete der Bakterioskopie und unter besonderer Berücksichtigung der Fortschritte der österreich. und reichsdeutschen optisch-mechan. Werkstätten. 2. Aufl. (In ca. 5 Lfgn.) 1. Lfg. gr. 8^{0}. p. 1—80 m. Abbildgn. Wien (Perles) 1900. 2 M.

Ruffer, Marc A. and **Crendiropoulo, M.**, Contribution to the technique of bacteriology. (Brit. med. Journ. 1900. No. 2079. p. 1305—1306.)

Systematik, Morphologie und Biologie.

Ariola, V., Revisione della famiglia Bothriocephalidae s. str. (Arch. de parasitol. T. III. 1900. No. 3. p. 369—484.)

Bassett-Smith, P. W., Observations on mosquitoes. (Journ. of tropical med. Vol. III. 1900. No. 27. p. 53—54.)

Bokorny, Th., Die oxydierenden Fermente (Oxydasen). (Naturwissenschaftl. Wchschr. 1900. No. 45. p. 529—531.)

Bournaret, A., De l'action de la lumière sur les bactéries. [Thèse.] Toulouse 1900.

Bubák, F., Ueber einige Umbelliferen-bewohnende Puccinien. (Aus: Sitzungsber. d. böhm. Gesellsch. d. Wiss.) gr. 8^{0}. 8 p. m. 1 Taf. Prag (Fr. Řivnáč) 1900. 0,40 M.

Engler, A. u. Prantl, K., Die natürlichen Pflanzenfamilien nebst ihren Gattungen und wichtigeren Arten, insbesondere den Nutzpflanzen, begründet von E. u. P., fortgesetzt von E. I. Teil. 1. Abt. a. Migula, W., Schizophyta: Schizomycetes. — Kirchner, O., Schizophyceae. — Senn, G., Flagellata: Pantostomatineae, Protomastigineae, Distomatineae, Chrysomonadineae, Cryptomonadineae, Chloromonadineae, Euglenineae, Anh. zu den Flagellata. Mit 615 Einzelbildern in 140 Fig., einem Spezialregister f. d. Schizomyceten, sowie Abteilungsregister. gr. 8^{0}. 192 p. Leipzig (Wilhelm Engelmann) 1900. 6 M.

Guiart, J., Les moustiques. Importance de leur rôle en médecine et en hygiène. (Annal d'hyg. publ. et de méd. légale. 1900. Nov. p. 407—442.)

Harlay, V. A., De l'application de la tyrosinase, ferment oxydant du Russula delica, à l'étude des ferments protéolytiques. [Thèse.] 8^{0}. 105 p. Paris (Lons-le-Saunier) 1900.

Hefferan, M., A new chromogenic micrococcus. (Botan. Gaz. Vol. XXX. 1900. No. 4. p. 261—272.)

Klöcker, A., Die Gärungsorganismen in der Theorie und Praxis der Alkoholgärungsgewerbe. Mit besond. Berücksicht. der Einrichtgn. u. Arbeiten gärungsphysiolog. u. gärungstechn. Laboratorien. gr. 8^{0}. XVI, 318 p. m. 147 Abbildgn. Stuttgart (Max Waag) 1900. 8 M.

van Laer, H., Les diastases oxydantes. (Petit journ. du brasseur. 1899. p. 435—436, 484—485. 1900. p. 18—19, 237—238, 312—313.)

Léger, L., Sur un nouveau sporozoaire des larves de diptères. (Compt. rend. de l'acad. d. scienc. T. CXXXI. 1900. No. 18. p. 722—724.)

Legros, G., Action des pigments microbiens. (Compt. rend. de la soc. de biol. 1900. No. 33 p. 900.)

v. Linstow, Taenia africana n. sp., eine neue Tänie des Menschen aus Afrika. (Centralbl. f. Bakteriol. etc. I. Abt. Bd. XXVIII. 1900. No. 16. p. 485—490.)

Neveu-Lemaire, M., Sur deux ténias trièdres. (Arch. de parasitol. T. III. 1900. No. 3. p. 492—508.)

Reh, L., Ueber Aspidiotus ostreaeformis Curt. und A. pyri Licht. (Zoolog. Anzeiger. 1900 No. 624. p. 497—499.)

Saint-Remy, G., Le développement embryonnaire dans le genre Anoplocephala. (Arch. de parasitol. T. III. 1900. No. 2. p. 292—315.)

Vallery-Radot, R., La vie de Pasteur (1860—1864). Fermentation et génération spontanée. (Rev. scientif. 1900. No. 19. p. 577—591.)

Weil, R., Die Entstehung des Solanins in den Kartoffeln als Produkt bakterieller Einwirkung. (Arch. f. Hygiene. Bd. XXXVIII. 1900. Heft 4. p. 330—349.)

Beziehungen der Bakterien und Parasiten zur unbelebten Natur.

Luft und Wasser.

Frisoni, P., Ricerche batteriologiche e chimiche sulle acque dei laghi di Bracciano e di Castel Gandolfo. (Annali d'igiene sperim. Vol. X. 1900. Fasc. 3. p. 229—252.)

Minervini, R., Einige bakteriologische Untersuchungen über Luft und Wasser inmitten des Nord-Atlantischen Ozeans. (Ztschr. f. Hygiene etc. Bd. XXXV. 1900. Heft 2. p. 165—194.)

Müller, P., Ueber die Verwendung des von Hesse und Niedner empfohlenen Nährbodens bei der bakteriologischen Wasseruntersuchung. (Arch. f. Hygiene. Bd. XXXVIII. 1900. Heft 4. p. 350—366.)

Mussi, U., Analisi chimica e batteriologica dell' acqua minerale alcalina e ferruginosa La Culla e dell' acqua minerale gassosa e ferruginosa di S. Andrea presso Chitignano, in provincia di Arezzo, di proprietà dei conti Bastogi, Rondinelli-Vitelli. Riassunto. (Estr. dell' Idrologia e la climatol. 1900. No. 1.) 8°. 10 p. Perugia (Unione tipogr. cooperat.) 1900.

Boden.

Böhi, U., Ueber pathogene Bewohner des Bodenschlammes der Limmat. (Korrspdzbl. f. Schweiz. Aerzte. 1900. No. 20, 21. p. 629—637, 673—681.)

Krüger, W. u. Schneidewind, W., Ursache und Bedeutung der Salpeterzersetzung im Boden. (Landwirtschaftl. Jahrb. 1900. Heft 4/5. p. 747—770.)

Nahrungs- und Genußmittel im allgemeinen, Gebrauchsgegenstände.

Liebreich, O., Aerztliche Prinzipien bei der Beurteilung der Schädlichkeit konservierter Nahrungsmittel. (Therapeut. Mtsh. 1900. Heft 11. p. 595—597.)

Fleisch.

Bail, O., Versuche über eine Möglichkeit der Entstehung von Fleischvergiftungen. (Hygien. Rundschau. 1900. No. 21. p. 1017—1020.)

Pfuhl, A., Massenerkrankungen nach Wurstgenuß. (Ztschr. f. Hygiene etc. Bd. XXXV. 1900. Heft 2. p. 265—306.)

Polenske, E., Ueber den Borsäuregehalt des amerikanischen Trockenpökelfleisches. (Arb. a. d. kaiserl. Gesundh.-A. Bd. XVII. 1900. Heft 2. p. 561—564.)

— —, Ueber das Verhalten von Borsäure, schwefliger Säure und künstlichen Farbstoffen in Dauerwurst. (Arb. a. d. kaiserl. Gesundh.-A. Bd. XVII. 1900. Heft 2. p. 568—572.)

Portet, J., Les microbes de la viande; leur rôle dans les intoxications alimentaires. [Thèse.] Toulouse 1900.

Milch, Molkerei.

Moro, E., Zur Charakteristik des diastatischen Enzymes in der Frauenmilch. (Jahrb. f. Kinderheilk. Bd. LII. 1900. Ergänzheft. p. 524—529.)

Rigaux, F., Maladies des fromages. (Belgique hortic. et agric. 1900. p. 168—169.)

Valagussa, F. e Ortona, C., Sulla resistenza e sul potere patogeno di alcuni microrganismi nel latte. (Annali d'igiene sperim. Vol. X. 1900. Fasc. 3. p. 308—339.)

Windisch, K., Ueber die Veränderungen des Fettes beim Reifen der Käse. (Arb. a. d. kaiserl. Gesundh.-A. Bd. XVII. 1900. Heft 2. p. 281—440.)

Bier, Brauerei.

Kunze, F., Aeltere Mittel zur Verhütung von Bierkrankheiten. (Dtsche Brau-Industrie. 1900. No. 52, 56, 61. p. 618—619, 667—668, 725—726.)

Schanderl, H., Verfahren zum Pasteurisieren von Bier unter Wiedereinführen der entweichenden gasförmigen Produkte nach deren Sterilisierung. D. R.-P. No. 112450. (Dtsche Brau-Industrie. 1900. No. 60. p. 713—714.)

Andere Nahrungs- und Genußmittel.

Terrier, A., Fermentation panaire (pain blanc; pain bis). 8°. 24 p. Lyon (Storck & Co.) 1900.

Wohnungen, Abfallstoffe etc.

Flügge, C., Die Wohnungsdesinfektion durch Formaldehyd auf Grund praktischer Erfahrungen. (Aus: Klin. Jahrbuch.) gr. 8°. 24 p. Jena (G. Fischer) 1900. 0,75 M.

Katz, A., Ueber Vorbeugungsmaßregeln zur Verhütung von Hausschwamm und über Hausschwammschutzmittel. (Techn. Gemeindebl. 1900. No. 14. p. 214.)

Beziehungen der Bakterien und Parasiten zu Pflanzen.

Harmlose Bakterien und Parasiten.

Dawson, M., Further observations on the nature and functions of the nodules of leguminous plants. (Philosoph. transact. Botany. 1900. p. 51—67.)

Krankheitserregende Bakterien und Parasiten.

Busse, W., Ueber die Mafutakrankheit der Mohrenhirse (Andropogon Sorghum L. Brot.) in Deutsch-Ostafrika. [Vorl. Mitteil.] (Tropenpflanzer. 1900. No. 10. p. 481—488.)
Del Guercio, G., Osservazioni naturali sulle lumache dei campi e sulle varie esperienze fatte per allontanarle dalle piante e per distruzzerle. (Nuove relazioni intorno ai lavori d. r. staz. di entomol. agrar. di Firenze. 1900. Ser. I. No. 2.)
Karlson, E., Zur Wurzelbrandfrage. (Blätter f. Zuckerrübenbau. 1900. No. 17. p. 260—265.)
Laborde, J., Etude sur la Cochylis et les moyens de la combattre par les traitements d'hiver. (Rev. de viticult. 1900. No. 350—352. p. 225—228, 258—260, 292—294.)
Massee, G., Appearance of American gooseberry-mildew in Ireland. (Gardener's chronicle. 1900. No. 713. p. 143.)
Rickmann u. Kaesewurm, Beobachtungen über Entwickelung und Verwendung des Heuschreckenpilzes in Deutsch-Südwestafrika. (Notizbl. d. kgl. botan. Gartens u. Museums zu Berlin. 1900. No. 24. p. 65—74.)
Ritzema Bos, J., Over krulloten en heksenbezems in de cacaoboomen in Suriname en eenige opmerkingen over heksenbezems in't algemeen. (Tijdschr. over plantenziekten. Jaarg. VI. 1900. Aflev. 3/4. p. 65—90.)
Stift, A., Die Krankheiten und tierischen Feinde der Zuckerrübe. Nach den neueren Erfahrungen der Wissenschaft und der Praxis bearb. Mit 24 farb. lith. Taf. gr. 8°. X, 208 p. Wien (Wilhelm Frick) 1900. 12 M.
Wanner, A., Zur Reblausfrage in Lothringen. (Landwirtschaftl. Ztschr. f. Elsaß-Lothringen. 1900. No. 33. p. 465—466.)
Wappes, L., Die Bekämpfung der Kiefernschütte. (Forstwissensch. Centralbl. 1900. Heft 9/10. p. 437—456.)

Entwickelungshemmung und Vernichtung der Bakterien.

Falke, F., Die Dehne'sche Desinfektionsmaschine für Saatgetreide. (Landwirtschaftl. Wchschr. f. d. Prov. Sachsen. 1900. No. 41, 42. p. 365—367, 374—375.)

Inhalt.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.

CENTRALBLATT
für
Bakteriologie, Parasitenkunde u. Infektionskrankheiten.

Zweite Abteilung:
Allgemeine, landwirtschaftlich-technologische Bakteriologie, Gärungsphysiologie, Pflanzenpathologie und Pflanzenschutz.

In Verbindung mit
Prof. Dr. **Adametz** in Wien, Prof. Dr. **J. Behrens** in Weinsberg i. W., Prof. Dr. **M. W. Beijerinck** in Delft, Dr. **v. Freudenreich** in Bern, Privatdocent Dr. **Lindau** in Berlin, Prof. Dr. **Lindner** in Berlin, Dr. **Morris**, Chef des Hansen-Laboratory, Jenner-Institute of Preventive Medicine in London, Prof. Dr. **Müller-Thurgau** in Wädensweil, Dr. **Erwin F. Smith** in Washington, D. C., U. S. A., Prof. Dr. **Stutzer** in Breslau, Prof. Dr. **Wehmer** in Hannover, Prof. Dr. **Weigmann** in Kiel und Prof. Dr. **Winogradsky** in St. Petersburg
herausgegeben von
Dr. O. Uhlworm in Cassel
und
Prof. Dr. Emil Christian Hansen in Kopenhagen.

Verlag von Gustav Fischer in Jena.

VI. Bd. **Jena,** den 20. Dezember 1900. **No. 25.**

Jährlich erscheinen 26 Nummern. Preis für den Band (Jahrgang) 20 Mark.
Preis für eine einfache Nummer 75 Pfg., für eine Doppelnummer 1 Mark 50 Pfg.
Nummern mit Tafeln kosten für jede Tafel 50 Pfg. mehr.
Hierzu als regelmäfsige Beilage die Inhaltsübersichten der I. Abteilung des Centralblattes.

Wünsche wegen Lieferung von besonderen Abdrücken wollen die Herren Mitarbeiter auf die Manuskripte schreiben oder bei Rücksendung der ersten Korrekturabzüge der Verlagsbuchhandlung mitteilen.

Original-Mitteilungen.

Relation of the Enzymes of Rennet to Ripening of Cheddar Cheese.

[From the Wisconsin Agric. Experiment Station.]

By **S. M. Babcock** and **H. L. Russell**, Wisconsin, U. S. A.

With 3 figures.

Introduction.

Although rennet has been used from ancient times in the manufacture of cheese, its action is even yet far from being satisfactorily

explained. The labors of Hammersten and others have added much to the knowledge of its action on milk, but strange to say, no scientifically controlled experiments have been made on its relation to cheese ripening, at least whit cheddar cheese.

At the present time, neither scientists[1]) nor practical cheesemakers agree as to whether it has even any action at all on the ripening of cheese. Under these circumstances it is apparent that so important a subject as this should receive scientific consideration; and, in our studies on the effect that enzymes exert on the ripening of cheddar cheese, it became necessary to differentiate between the action of the inherent milk enzyme, galactase, and the enzymes in the rennet used in the manufacture of cheese.

Experiments on cheddar cheese made with different quantities of rennet extract.

To determine the influence that various quantities of rennet exert upon the rate of ripening in cheddar cheese, a number of cheese were made in which different quantities of rennet were added to equal weights of milk. These cheese were made and kept under uniform conditions, the amount of soluble proteids being determined at stated intervals by the method previously described[2]). These results are incorporated in table I.

Table 1. Influence of different quantities of rennet on the soluble nitrogenous products formed in cheddar cheese.

Amount of rennet: added per 1000 lbs milk (ozs.).	Per cent. of soluble nitrogen			
	Initial	32 days old	85 days old	270 days old
2	0,14	0,47	0,68	1,30
4	0,16	0,75	1,13	1,74
8	0,16	0,90	1,50	1,97
16	0,14	1,26	1,71	2,04

An increase in the amount of rennet is always accompanied, in this case, by an increase in the amount of soluble nitrogenous products. That this increase is due to the activity of the ferment added, and not to the soluble products contained in the extracts used, is shown by the initial nitrogen being practically the same in all cases. These results indicate that the rate of ripening is a function of the amount of rennet used- that an increase in rennet above the normal amount causes these digestive changes to proceed more rapidly.

Explanation of increase in soluble nitrogen.

To satisfactorily explain this increase in amount of nitrogenous by products where increased amount of rennet is used in making cheese, it is necessary to consider the nature of rennet or its extracts that are used commercially in cheese making.

Commercial rennet extract, derived as it is from the stomachs of suckling animals, naturally contains those enzymes peculiar to this

1) Fleischmann, Book of the dairy, transl. by Aikmann & Whright, p. 238.
2) Cent. f. Bakt. 2. Abt. Bd. VI. 1900. p. 7.

organ viz., a coagulating enzyme, rennin, and a proteolytic enzyme, pepsin.

The peculiar function of rennet in milk used in cheesemaking is to precipitate the casein, but it is not at all improbable that other ferments present in the solution, such as pepsin, would be active if the external conditions were favorable.

In previous studies on the action of various enzymes in milk[1]), it has been shown that pepsin and rennet extract produce certain nitrogenous decomposition products that are characteristic, and

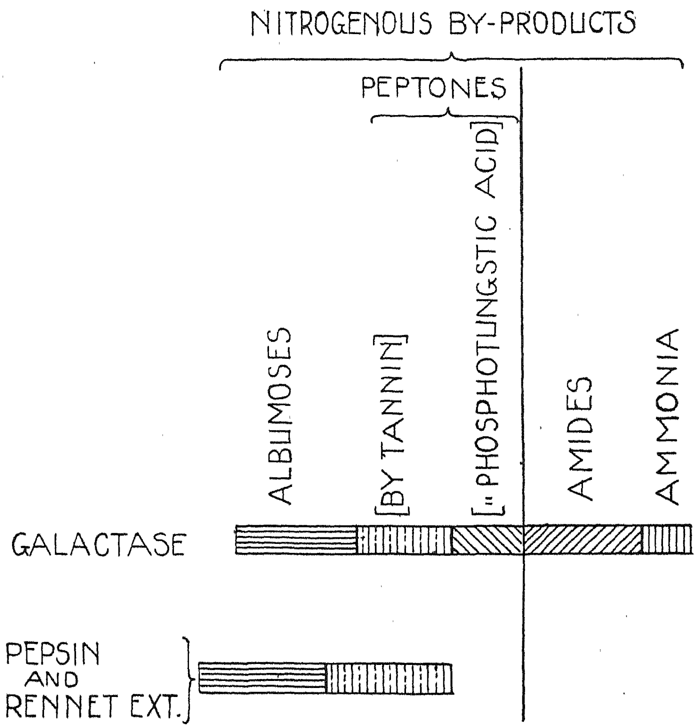


Fig. 1.

essentially different from those formed by galactase. In the case of both pepsin and rennet extract, these products are confined to the higher decomposition groups, albumoses, and peptones which are precipitated by tannin. No amides or ammonia is formed. The relation between these products and those formed by galactase, the inherent milk ferment is shown in fig. 1.

It may therefore be possible by means of a differentiation of these decomposition products present in cheese made with varying amounts of rennet extract, to ascribe to the different proteolytic fer-

1) 16 Rep. Wis. Exp. Station. 1899. p. 157.

ments, galactase, and the pepsin of rennet extract, the specific rôle which each plays in normal cheese ripening.

To accomplish this, a number of cheese were made with varying quantities of rennet, and these were analyzed at stated periods (Series I to III by our assistant, Mr. A. Vivian, Series IV, independently, by Mr. J. Michels).

Table 2. Influence of amount of rennet extract upon formation of decomposition products in cheddar cheese.

Days	Amt. rennet used. ozs.	Total nitrogen	Total soluble nitrogen	Nitrogen as					
				Insoluble	Albumoses	Peptones precipitated by Tannin	Peptones precipitated by Phosphotungstic acid	Amides	Ammonia
				Series I.					
270	2	4,48	1,30	3,18	0,06	0,16	0,13	0,87	0,08
	4	4,55	1,74	2,81	0,13	0,25	0,26	0,96	0,14
	8	4,34	1,97	2,37	0,29	0,26	0,20	1,06	0,16
	16	4,63	2,04	2,59	0,34	0,25	0,19	1,12	0,14
				Series II.					
30	3	4,20	0,65	3,55	0,26	0,15	0,09	0,15	trace
	9	4,25	0,84	3,41	0,45	0,15	0,09	0,15	„
	19	4,18	0,99	3,19	0,60	0,15	0,09	0,15	„
60	3	4,50	0,90	3,60	0,14	0,24	0,10	0,40	0,02
	9	4,45	1,09	3,36	0,25	0,32	0,10	0,40	0,02
	18	4,50	1,26	3,24	0,33	0,41	0,10	0,40	0,02
180	3	4,60	1,36	3,24	0,20	0,21	0,08	0,70	0,17
	9	4,55	1,60	2,95	0,42	0,25	0,08	0,69	0,16
	18	4,55	1,88	2,67	0,68	0,27	0,07	0,70	0,16
				Series III.					
30	3	4,42	0,61	3,81	0,22	0,10	0,13	016	trace
	12	4,35	0,82	3,53	0,39	0,14	0,13	0,16	„
	24	4,51	1,12	3,39	0,53	0,30	0,12	0,17	„
90	3	4,50	1,05	3,45	0,21	0,08	0,16	0,52	0,08
	12	4,51	1,44	3,07	0,36	0,29	0,17	0,53	0,09
	24	4,43	1,53	2,90	0,41	0,35	0,17	0,52	0,08
				Series IV.					
75	3	4,15	0,76	3,39	0,11	0,11	0,14	0,29	0,11
	12	4,09	1,05	3,04	0,25	0,26	0,10	0,32	0,12
	24	4,21	1,23	2,98	0,34	0,35	0,08	0,34	0,12

To permit of a more direct comparison, the foregoing data on series I—IV is also shown in fig. 2.

While there is a constant increase in the amount of total soluble nitrogen where there was an increase in amount of rennet used, which increase persists for the different age-periods at which the cheese were analyzed, yet, the important observation should be noted, that in all series, the increase is confined to the higher and more complex proteid decomposition products, including the albumoses, and the peptones precipitated by tannin.

Inasmuch, as these are the products peculiar to peptic digestion

of casein, the evident conclusion would seem to be that the increased proteolytic change in cheddar cheese made with increased amounts of rennet extract is attributable to the pepsin of such solutions.

Action of increased amounts of pepsin in rennet extract used in cheese-making.

If increased digestion of cheese made with large quantities of rennet is due to the action of the pepsin contained in such extract, then the crucial test of this hypothesis would be to add pure pepsin to ordinary rennet extract, and determine if increased digestion followed; for the action of pepsin should be the same, wheter it was originally present in the rennet solution or had been freed from other impurities. According to this hypothesis, cheese made with rennet to which pepsin had been added, should not only contain an increased amount of soluble nitrogenous products, but the increase in soluble nitrogen should be confined to those products that are characteristic of peptic digestion, i. e., albumoses, and the higher peptones.

To test this hypothesis, the following series of experiments were performed. Cheese were made as follows:

1) Ordinary cheese made with 1:5000 parts of commercial rennet extract.

2) Same as No. 1, with 4 grs. Parke, Davis & Co.'s aseptic pepsin.

3) Same as No. 2, but pepsin solution first acidified to 0,2 proz. H Cl.

4) Same as No. 1, with 4 grs. German scale pepsin.

5) Same as No. 4, but pepsin first acidulated as in No. 3.

6) Same as No. 1, with 4 grs. Armour's pepsin.

7) 4 grs. Armour's pepsin with no rennet extract.

8) 4 grs. Parke, Davis & Co.'s pepsin with no rennet extract.

After 30 days the soluble nitrogen in these cheese were determined with the following results:

Table 3. Influence of pepsin on digestion of cheese.

Date of making	Per cent. total soluble nitrogen							
	Cheese No. 1	2	3	4	5	6	7	8
June 27	0,73	1,18	1,18	—	—	—	—	—
„ 28	0,71	1,11	1,10	—	—	—	—	—
„ 29	0,73	—	—	0,88	0,94	1,26	—	—
July 2	0,73	—	—	—	—	—	0,99	1,01

The influence of pepsin on the digestion of cheddar cheese is evident from this, there being no exception to the rule that the increase in soluble nitrogen was in excess of any of the control cheese which were made with rennet extract alone. Considerable variation [illegible] pepsin digestion is, however, to be noted, when the different brands [illegible] pepsin are compared. The diminution in peptic action of the [illegible]rman scale pepsin was undoubtedly due to the fact that this sample [illegible] several years old. In this case, acidulation of solution aided

somewhat in digestion, but in the case of the fresh samples, no increase of this sort was observed.

Similarity in action of pepsin and rennet extract in cheese.

While the soluble nitrogen in foregoing series was invariably greater in those cheese to which pepsin had been added to the rennet extracts used, this conclusion can be further strengthened by comparing the character of the decomposition products formed in high rennet and pepsin cheese. It has already been shown in the high rennet cheese, that the increase in soluble nitrogen is confined to the higher peptones and albumoses. A differential analysis of the pepsin and normal cheese made on June 27 as shown in table 4. indicates that the same conclusion holds with reference to the cheese made with the addition of pepsin. The identity of the by-products of the pepsin and high rennet cheese is thus established.

Table 4. Amount of nitrogenous decomposition products produced in pepsin cheese in comparison with normal rennet cheese.

	Total-N.	Total soluble N.	In-soluble	Albu-moses	Peptones precipitated by		Amides	Ammonia
					taunin	phosphotungstic acid		
Normal cheese (No. 1)	3,94	0,73	3,13	0,23	0,08	0,16	0,26	tr.
Normal cheese with pepsin (No. 3)	3,98	1,18	2,72	0,58	0,18	0,16	0,26	tr.

Influence of acidity of curd on rate of pepttic digestion.

In the series of pepsin cheese referred to above, the milks were generally well ripened, although they were not carried further than was compatable with good cheddar treatment. In the previous year a series of experiments on pepsin cheese made with the old German pepsin showed no increased digestion, but in these cases, the milk was not ripened down, neither was acid developed in the curds on the rack. It is probable that the acidity in these instances was not sufficient to promote the activity of this old sample of pepsin. Thies view is strengthened by the fact that in the cheese made on June 29, this same pepsin was used, and in these cheese in which acid was developed, the digestive action was markedly apparent, although even this was intensified when the pepsin solution was first acidified.

This point suggests the possibility that the action of pepsin in rennet extract is closely related to the extent to which the development of acid in the curds is carried; that the more acid there is developed in the curd, the more marked is the influence of the pepsin in the curing of the cheese. This view is still further substantiated by the data presented in table 3.

If cheeses (nos. 7 and 8) made whit Armour's and Parke, Davis & Co.'s pepsins respectively, are compared, it is seen that the digestion is practically the same, showing that their activity under similar conditions of manufacture is nearly identical. But in cheese, No. 6 of this series made with Armour's pepsin in which considerable acid was developed, the digestion was considerably more than in No. 3 cheese (June 27 and 28) made with Parke, Davis & Co.'s pepsin. In this comparison, the otherwise equally active pepsins show a marked difference, which can best be explained by the difference in acidity.

Still further confirmation ot this view is shown in a series of experiments made to determine the acidity of milk that is necessary to cause digestion where rennet extract is added to same.

In our work of the previous year[1]), it had been observed that the addition of rennet extract, or even purified pepsin to fresh milk failed to produce any increase in soluble nitrogenous products, but when 0,2 % HCl was added, digestion proceeded in each case, the increase being confined exclusively to the albumoses.

To determine the degree of acidity necessary to facilitate peptic digestion in milk, an experiment was made as follows:

To milks in which the galactase had been destroyed by heat, different amounts of lactic acid were added, ranging from 0,05—0,3 per cent, the original milk having an acidity of 0,13 %. To these samples, commercial rennet extract was added in proportions of 1:100, and after 10 days incubation at 35° C., the soluble nitrogen was determined as is shown in Table 5:

Table 5. Influence of acidity on digestion of milk by rennet extracts.

Original acidity of milk (determined by phenolphthalein							0,13
Lactic acid added (per cent)	0,00	0,05	0,10	0,15	0,20	0,25	0,30
Total acidity	0,13	0,18	0,23	0,28	0,33	0,38	0,43
Soluble nitrogen after 10 days	0,06	0,06	0,06	0,06	0,08	0,09	0,11

These results, also shown in fig. 3, indicate that the conditions in milk do not favor the digestion of the casein by the peptic ferments of rennet extract, until the acidity of the milk approximates 0,3 % lactic acid. This point conforms closely to the limits set by cheddar practice.

A previous experiment made where lactic acid alone was added to boiled milk showed no increase in soluble nitrogen, thus indicating that the lactid acid by itself has no digestive action on casein in the proportions in which it would exist in milk or cheese.

Variation in activity of different pepsins.

In order to compare the activity of different brands of pepsin used in these experiments, the following tests were made:

To sterile galactase-free milk, pepsins of different origin were added in proportion of 1:400. Each lot was divided and one portion acidified by adding 0,2% HCl. To these chloroform was added

1) 16 Rept. Wis. Sta. 1899. p. 171.

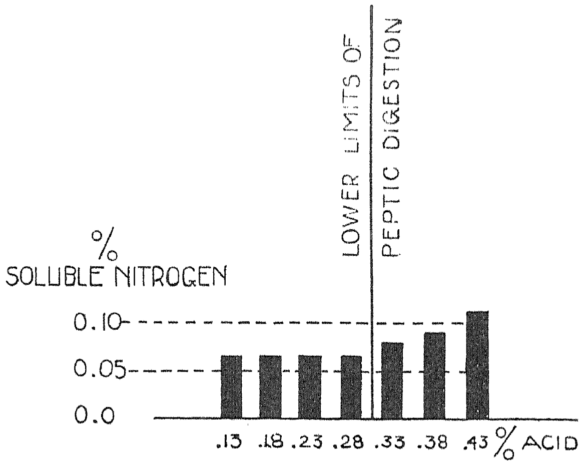


Fig. 3.

to prevent bacterial changes. After a period of incubation of 14 days at 35° C., the soluble nitrogen was determined as follows:

Table 6. Comparative activity of different pepsins in milk of different acidities.

	Per cent of soluble N (14 days)	
	normal milk	acidified
Control milk (no pepsin)	0,08	0,08
Armour's pepsin	0,08	0,32
Parke, Davis & Co.'s pepsin	0,08	0,33
German scale pepsin (old)	0,08	0,18

Effect of acid salts on peptic digestion.

While free acids (HCl or lactic) were added in all of these experiments to the milk, still, acidity tests of the same with Congo red as indicator have never shown any free acid present. This would indicate that the free acid added had combined with the phosphates, or perhaps the casein forming acid salts. It is generally supposed that pepsin requires free acid for its action, but in milk at least, acid salts appear to replace this condition.

This point was tested directly by acidifying milk with cream of tartar (potassium acid tartrate) instead of free lactic or mineral acids. Sufficient amount of this acid salt was added to milk to produce an acidity (with phenolphthalein) equivalent to 0,45 % lactic acid, and to different portions of this milk, Parke, Davis & Co.'s pepsin (1:400), and rennet extract (1:100), were added. Analyses after two weeks incubation at 35° C. showed following results:

Control milk	0,04 %	soluble N.
Pepsin (1:400)	0,28 %	" "
Rennet extract (1:100)	0,18 %	" "

The view previously advanced that acid salts can replace free acid in peptic digestion is thus confirmed.

Conclusions.

The conclusions drawn from the experiments herein detailed are as follows:

1) That an increase in amount of rennet extract used does increase the amount of soluble nitrogenous products which measure the progress of cheese ripening.

2) The products of peptic digestion in milk or cheese are confined to the higher nitrogenous decomposition products, viz., albumoses and peptones precipitated by tannin.

3) The increase in soluble nitrogenous products in cheese due to an increase in amount of rennet extract used are also confined to those by-products that are peculiar to pepsin, thus indicating that the digestive action of rennet extract is attributable to the action of the pepsin incorporated with the rennet extract.

4) The crucial test of this conclusion was made by adding purified pepsin to milk, and making the same into cheese, where rennet extract was or was not used to curdle the milk. In such cases, digestion has been increased in those cheese to which pepsin has been added, and this increase has been confined to those by-products that are characteristic of pepsin, and which also appear in cheese made with high quantities of rennet.

5) The digestion in cheese incident to pepsin is determined mainly by the degree of acidity developed[1]) in the milk and curd. In cheddar cheese, peptic digestion probably does not begin until acidity of milk is approximately 0,3 $^0/_0$ lactic acid.

6) Acid salts as phosphates etc., favor peptic digestion in milk in a manner comparable to free acids.

7) Free acid does not normally exist in cheddar cheese, the apparent acidity being due to acid salts.

Summarizing these conclusions, rennet extract exerts a proteolytic effect on the casein of cheese due to the presence of peptic enzymes contained in rennet extracts, the action of which is intensified by the development of acid in the curd. The soluble nitrogenous by-products formed in cheddar cheese by rennet are the albumoses or higher peptones that are precipitated by the tannin.

Description of figures.

Fig. 1. Relation of soluble nitrogenous by-products of galactase, pepsin, and rennet extract solutions.

Fig. 2. Soluble nitrogenous by-products formed in cheddar cheese made with varying quantities of rennet extract. Heavy black line divides upper group (albumoses and peptones) from lower group (amides and ammonia).

Fig. 3. Influence of acidity (in $^0/_0$ lactic acid) on peptic digestion in milk.

---

1) After the completion of this article, we received from Orla Jensen of Berne, Switzerland, a separate from the Landwirtschaftlichen Jahrbuch der Schweiz for 1900 on "Studien über die Enzyme im Käse" in which is detailed a series of experiments from which is derived the same conclusions regarding the influence of acidity on the peptic digestion of rennet in cheese that have been drawn in the foregoing article. Jensen found that the soluble nitrogen of cheese made with the addition of lactic acid was increased and that this increase was confined to the products peculiar to pepsin. As he arrived at his results by a method radically different from the one used in this work, the conclusions thus independently obtained as to the influence of pepsin in rennet on cheese digestion are very materially strengthened.

Nachdruck verboten.

Studien über die Enzyme im Käse.

Von **Orla Jensen,**

I. Assistenten des bakteriologischen Laboratoriums der schweizerischen landwirtschaftlichen Versuchs- und Untersuchungsanstalten in Bern.

(Schluß.)

In den ersten Tagen nach der Herstellung eines Backsteinkäses ist wegen dessen hohen Milchsäuregehalts das Pepsin der alleinige Reifungsfaktor in der ganzen Masse; aber nach und nach wird sein Wirkungsfeld von den an der Oberfläche gebildeten, weit kräftigeren Enzymen begrenzt. Die erforderliche Bedingung, damit diese Enzyme in gewissen Schichten des Käses eine größere Wirkung als das Pepsin entfalten können, ist nämlich, daß diese Schichten nur wenig freie Säure enthalten. Diese Bedingung wird gewöhnlich an den Randschichten des Kernes erfüllt sein, und damit ist die Möglichkeit gegeben, daß die Speckschicht immer tiefer nach innen geht. Wie wir nämlich gesehen haben, nimmt die Acidität des Kernes immer ab wegen des aus den von außen kommenden Zersetzungsprodukten gebildeten Ammoniaks. Die Randschichten des Kernes sind selbstverständlich diejenigen Teile desselben, welche am reichlichsten Rohmaterial für die Ammoniakbildung besitzen, die Milchsäure wird deshalb am schnellsten hier abgestumpft, und die von der Oberfläche kommenden Enzyme können in diesen neutralen Schichten ihre volle Wirksamkeit entfalten.

Mit der Abstumpfung der Säure im Kern eines Backsteinkäses werden die hier anwesenden Milchsäurefermente (deren Enzyme wahrscheinlich die in der Tabelle XXI nachgewiesenen Bakterienenzyme sind) sich auch an der Umbildung des Caseïns beteiligen. Da die Milchsäurefermente indessen, wie es von den Hartkäsen bekannt ist, bei niedriger Temperatur nur sehr langsam das Caseïn zersetzen, so können ihre Produkte während der kurzen Zeit, in welcher sie in den Backsteinkäsen gebildet werden, diesen Käsen kaum ein merkbares Gepräge verleihen.

Was die Enzyme der Oberfläche in den mittleren Schichten des Käses an Ausdehnung ihres Wirkungsfeldes gewinnen, verlieren sie andererseits, wenigstens für einige Zeit (einige Backsteinkäse werden nämlich im vollreifen Zustande amphoter), in den äußeren Teilen der Speckschicht infolge der hier immer tiefer eindringenden Zersetzung der Fettstoffe. Wenn das Pepsin zu dieser Zeit nicht zerstört ist, wird es in dem entstandenen buttersauren Gebiete eine Nachwirkung ausüben und somit nicht nur die Auflösung des Caseïns in den Backsteinkäsen in den ersten Tagen einleiten, sondern sie auch später vollenden können[1]).

Interessant ist es zu sehen, wie leicht man sich im Studium der

1) Um allen Mißverständnissen vorzubeugen, will ich hervorheben, daß der Umstand, daß das Pepsin ein nützlicher Faktor bei der Backsteinkäsereifung ist, es nicht mit sich bringt, daß dasselbe ein notwendiger Faktor sei.

Käsereifung täuschen könnte, denn man hätte von vornherein kaum annehmen können, daß Mikroorganismen, welche bei 35° C außergewöhnlich viele Zersetzungsprodukte bilden, wie bezüglich der Mikroorganismen der Schmiere eines Backsteinkäses gezeigt wurde, die Reifungserreger dieser an Zersetzungsprodukten so armen Käsesorte wären. Wir haben jedoch gesehen, wie dieser scheinbare Widerspruch sich durch die niedrige Reifungstemperatur und die große Säuremenge der Backsteinkäse erklären läßt; im letzten Abschnitte dieser Arbeit werde ich noch einen mehr allgemein giltigen Grund hierfür angeben.

Die Enzyme der Emmenthalerkäse.

Da in früheren Arbeiten schon viele Analysen von Emmenthalerkäsen publiziert worden sind, halte ich es für unnütz, hier solche anzuführen. Ich will nur in Erinnerung bringen, daß der Emmenthalerkäse ein wasserarmer, aber fettreicher Hartkäse ist, dessen Fett im Gegensatz zu dem Fett in den Backsteinkäsen nur geringe Zersetzungen erleidet, weshalb der Geschmack rein und mild bleibt. Ferner ist die Ammoniakbildung in einem Emmenthalerkäse so gering, daß ein Extrakt eines solchen Käses immer sauer auf Lackmuspapier reagiert. Durch die vielen gründlichen Arbeiten v. Freudenreich's ist es wahrscheinlich gemacht, daß unter den im Käse vorkommenden Mikroorganismen nur die Milchsäurefermente, und darunter besonders gewisse Bacillen, eine wesentliche Rolle bei der Reifung des Emmenthalerkäses spielen können. In einer kürzlich erschienenen Arbeit von v. Freudenreich und mir über „die Bedeutung der Milchsäurefermente für die Bildung von Eiweißzersetzungsprodukten in Emmenthalerkäsen“ [1]) wurde gezeigt, daß es die Milchsäurefermente sind, welche die Hauptmenge der für die Geschmacksbildung nötigen Eiweißzersetzungsprodukte in den Emmenthalerkäsen bilden. Dieselbe Arbeit zeigt ferner, daß Emmenthalerkäse, aus gekochter Milch hergestellt, d. h. Milch, in welcher die Galaktase zerstört ist, fast nicht reiften, gleichgiltig mit welchen Bakterienkulturen sie auch geimpft worden waren. Es scheint also daraus hervorzugehen, daß die Galaktase ein notwendiger Faktor für die Reifung des Emmenthalerkäses ist [2]).

Um zu sehen, welcher von den zwei Faktoren, die Milchsäurefermente oder die Galaktase, die Hauptrolle für die Reifung des Emmenthalerkäses spielt, brauchen wir nur die in einem solchen Käse vor sich gehende Umbildung des Caseïns mit den Umbildungen desselben, welche jeder der zwei Reifungsfaktoren für sich allein hervorrufen kann, zu vergleichen.

Nachfolgende Tabelle, zusammengestellt auf Grund vieler im

1) Diese Zeitschrift. Bd. VI. p. 12.

2) Wenn die Thatsache, daß Emmenthalerkäse, aus gekochter Milch hergestellt, nicht reifen, wirklich der Zerstörung der Galaktase zu verdanken wäre, so dürften solche Käse wieder normal reifen, wenn man vor dem Verkäsen der gekochten Milch Galaktase zusetzen sollte. Ich habe daher, um über diesen Punkt Klarheit zu verschaffen, diesbezügliche Versuche bereits eingeleitet.

hiesigen Laboratorium vorgenommenen Analysen, giebt einen schematischen Ueberblick über diese Umbildungen. Der ursprüngliche Gehalt der frischen Käsemasse und der Milch an löslichen stickstoffhaltigen Substanzen ist natürlich in Abzug gebracht. Der lösliche Stickstoff ist, wie gewöhnlich, in Prozenten des Gesamtstickstoffes, Zersetzungs- und Ammoniakstickstoff dagegen sind in Prozenten des löslichen Stickstoffes angegeben.

Tabelle XXVII.

		LN	ZN	AN
Käsereeifung	Während d. vollständig. Reifung eines Emmenthalerkäses wird gebild.	27—33	56—71 %	7—8 %
Milchsäurefermente	In alten, neutral gehalt. Milchkulturen v. Bacillus ε wird gebildet	26—32	74—86 %	13 %
Galaktase	In alter, mit Aether steril gehaltener Milch wird gebildet	42—62	7—10 %	

Da ich keine Ammoniakbestimmung in alter, mit Aether steril gehaltener Milch vorgenommen habe, weiß ich nicht, wie viel NH_3 die Galaktase mit der Zeit bilden kann; nach 6 Wochen bei 35° C sind es indessen nur Spuren, 0,6 Proz. vom gebildeten LN, wie man es aus der Tabelle III berechnen kann. Babcock und Russell geben freilich höhere Zahlen für die von Galaktase gebildeten Mengen ZN und AN an, aber sie haben auch die Galaktase in Form eines Auszuges des sehr bakterienreichen Centrifugenschlamms verwendet, weshalb eine Mitwirkung von Bakterienenzymen nicht ausgeschlossen ist, von deren Bedeutung für die Bildung von ZN und AN vorliegende Arbeit viele Beispiele giebt.

Vorstehende Tabelle zeigt deutlich, daß die Reifung des Emmenthalerkäses eine auffallende Aehnlichkeit mit der Umbildung des Caseïns zeigt, welche Bacillus ε hervorzurufen vermag, dagegen aber keine Aehnlichkeit mit der von der Galaktase hervorgebrachten Umbildung des Caseïns. Die Milchsäurefermente müssen deshalb eine größere Rolle als die Galaktase bei der Reifung des Emmenthalerkäses spielen.

Um die Rolle der Galaktase für die Reifung dieser Käsesorte näher zu präzisieren, müssen wir das Verhalten der Emmenthalerkäse verschiedenen Alters gegenüber der Formalinätherprobe untersuchen. Da das Anschneiden großer Emmenthalerkäse, die noch nicht über einen Monat alt sind, mit einer zu großen Wertverminderung derselben verbunden ist, habe ich mich für die Untersuchung eines 14 Tage alten Käses mit einem im Laboratorium aus 10 l Vollmilch mit Naturlab der Molkereischule Rütti hergestellten Emmenthalerkäse begnügen müssen. Die frische Masse dieses Käses, unmittelbar nach der Herstellung untersucht, ist die in der Tabelle VI beschriebene Käsemasse 3. Nachfolgende Tabelle im Vergleich mit Tabelle VI zeigt, daß nach 14 Tagen ein Emmenthalerkäse schon Bakterienenzyme enthält, indem er jetzt mit 1 ‰ Formalin als Antiseptikum eine kräftigere Selbstverdauungsfähigkeit als in ganz frischem Zu-

stande aufweist. Da die Vermehrung des LN mit Aether als Antiseptikum fast ebenso groß wie in der frischen Emmenthalerkäsemasse ist, haben wir hier keinen Grund, so wie bei den Backsteinkäsen anzunehmen, daß die Galaktase während der Reifung rasch abgeschwächt wird. Dieses Verhältnis muß wohl mit dem geringeren Säuregrade des Emmenthalerkäses in Verbindung stehen.

Tabelle XXVIII.

Emmenthalerkäse 10, 14 Tage alt	Ohne Säurezusatz		Mit 2 ‰ Milchsäure	
35° C	LN	ZN	LN	ZN
Nach 15 Stunden mit 1 ‰ Formalin	7,40	0,67	6,06	0,50
Nach 14 Tagen mit 1 ‰ Formalin	14,47	1,18	7,74	0,50
Nach 14 Tagen mit 25 % Aether	19,68	1,18		

Diese Tabelle zeigt wiederum, daß die gebildeten Bakterienenzyme sehr empfindlich gegenüber Säure sind, so empfindlich nämlich, daß sie auf der vorhandenen Reifungsstufe, in welcher der Käse, wie Tabelle XII es zeigt, über 3 ‰ freie Milchsäure enthält, keine Rolle spielen können. Da merkwürdigerweise das mit dem Naturlab zugesetzte Pepsin schon vollständig zerstört zu sein scheint[1]), ist das einzige von den im Emmenthalerkäse vorkommenden Enzymen, welches vorläufig die Reifung befördern kann, die Galaktase, die von der vorhandenen Säuremenge freilich auch etwas abgeschwächt, aber keineswegs vollständig gehemmt wird.

Die nächstfolgende Tabelle XXIX zeigt das Verhalten von 3 anderen Emmenthalerkäsen, 11, 12 und 13, gegenüber der Formalinätherprobe. Käse 11 war wie alle die folgenden, in dieser Arbeit vorkommenden, nicht vollreifen Emmenthalerkäse auf der Molkereischule Rütti hergestellt worden. Er war nur einen Monat alt und von sehr fadem Geschmacke, was dem Umstande zuzuschreiben ist, daß er, wie aus der Tabelle sich ergiebt, nur noch wenig Zersetzungsprodukte enthielt. Käse 12 war $2^1/_2$ Monate alt und Käse 13 war ein vollreifer Marktkäse.

Tabelle XXIX.

	Emmenthalerkäse 11, 1 Monat alt		Emmenthalerkäse 12, $2^1/_2$ Monate alt		Emmenthalerkäse 13, vollreif
35° C	LN	ZN	LN	ZN	LN
Nach 15 Stunden mit 1 ‰ Formalin	19,72	1,88	28,96	10,53	35,91
Nach 14 Tagen mit 1 ‰ Formalin	27,79	4,88	36,48	13,73	42,09
Nach 14 Tagen mit 25 % Aether	33,42	5,63	46,26	12,44	48,91

1) Da ich erst, nachdem ich meine Studien über die Enzyme im Emmenthalerkäse beendigt hatte, auf die Gegenwart des Pepsins in frischer Käsemasse aufmerksam wurde, habe ich leider keine eingehenderen Untersuchungen über das Verhalten des Pepsins im Emmenthalerkäse ausführen können. Jedenfalls wird dieses Enzym, selbst

Diese Tabelle zeigt deutlich, daß Emmenthalerkäse verschiedenen Alters ein gegen Formalin sehr empfindliches Enzym, welches hauptsächlich lösliche Proteïnstoffe bildet, enthalten. Hierdurch ist es wahrscheinlich gemacht, daß die Galaktase während der Reifung des Emmenthalerkäses immer wirksam bleibt.

Da die Galaktase vorwiegend lösliche Proteïnstoffe und die Milchsäurefermente vorwiegend weitere Zersetzungsprodukte bilden, so kann man leicht verfolgen, in welchen Reifungsstadien die erstere und in welchen die letzteren die Hauptrolle für die Reifung des Emmenthalerkäses spielen. So lange die Käsemasse noch ziemlich sauer ist, kann, wie gezeigt wurde, nur die Galaktase wirken, was damit in gutem Einklange steht, daß in den ersten Reifungsstadien des Emmenthalerkäses fast ausschließlich lösliche Proteïnstoffe und nur Spuren von weiteren Zersetzungsprodukten gebildet werden. Mit der Hauptgärung, sobald die Milchsäure teilweise abgestumpft ist, beginnt die proteolytische Thätigkeit der Milchsäurebacillen, welche sich in einer starken Zunahme der Zersetzungsprodukte kundgiebt. Die Menge dieser Produkte nimmt in den späteren Reifungsstadien immer zu, währenddem die Zunahme der löslichen Proteïnstoffe immer geringer wird, d. h. die Milchsäurefermente oder deren Enzyme werden mit der Zeit immer mehr der alleinige Reifungsfaktor, wahrscheinlich weil die Galaktase nach und nach schwächer wird. Kurz ausgedrückt, scheint die Umbildung des Caseïns während der Reifung des Emmenthalerkäses auf einer metabiotischen Wirkung von Galaktase und Milchsäurefermenten zu beruhen.

Vergleichen wir die verschiedenen Tabellen dieses Abschnittes und ebenso Tabelle I mit den Tabellen VI und IX, so sehen wir, daß der Emmenthalerkäse auf jeder seiner Reifungsstufen bei Gegenwart von 1 $^0/_{00}$ Formalin eine weit höhere Selbstverdauungsfähigkeit als die frische Emmenthalerkäsemasse aufweist. Da in letzterer die Galaktasewirkung mit 1 $^0/_{00}$ Formalin bereits unbedeutend geworden ist, können wir sie bei älteren Emmenthalerkäsen, in welchen sie noch schwächer sein muß, ganz außer Betracht fallen lassen, d. h. wir können, ohne große Fehler zu begehen, die Selbstverdauung eines Emmenthalerkäses, welche mit 1 $^0/_{00}$ Formalin stattfindet, ausschließlich als eine Wirkung von Bakterienenzymen auffassen. Bevor wir näher darauf eintreten, die Eigenschaften dieser Bakterienenzyme zu studieren, müssen wir uns vorerst darüber klar werden, in welchen Schichten des Emmenthalerkäses sie hauptsächlich zu finden sind. Zu diesem Zwecke habe ich 3 jüngere Emmenthalerkäse, 1, $2^1/_2$ und 5 Monate alt, sowohl im Innern als auch in oder gerade unter der Rinde auf Enzyme untersucht. Die 2 ersten Käse sind die in der Tabelle XXIX erwähnten Käse 11 und 12, der dritte Käse (14) machte, trotzdem er nur 5 Monate alt war, den Eindruck eines vollreifen Emmenthalerkäses.

---

wenn es nicht immer so schnell zerstört werden sollte, wie im vorliegenden Falle, kaum eine wesentliche Rolle für die Reifung des nur wenig saueren Emmenthalerkäses spielen können.

Tabelle XXX.

Emmenthalerkäse 11, 1 Monat alt	Die 2 äußersten Millimeter der Rinde			Die innerste Käsemasse		
1 $^0/_{00}$ Formalin	LN	ZN	Acidität	LN	ZN	Acidität
Nach 15 Stunden bei 35° C	11,78	2,51	11	19,72	1,88	11
Nach 14 Tagen bei Zimmertemperatur	30,96	6,48	23	28,92	3,38	15
Nach 14 Tagen bei 35° C	22,89	9,26	24	27,79	4,88	17
Nach 4 Wochen bei 35° C				29,29	6,20	17

Diese Tabelle zeigt, daß die Enzyme der Rinde stärker sind als die der inneren Käsemasse, jedenfalls was die Fähigkeit, Zersetzungsprodukte zu bilden, betrifft, und daß diese letztere Bildung wie gewöhnlich bei 35° C stärker als bei Zimmertemperatur vor sich geht. Wie in allen jüngeren Emmenthalerkäsen sind auch in den hier untersuchten Käsen während der Reifung viele bei 35° C koagulierbare Proteïnkörper entstanden; daher rührt es, daß man eine scheinbar größere Vermehrung des LN bei Zimmertemperatur als bei 35° C hat. Um zu sehen, ob die Enzyme der Rinde eine Rolle für die Reifung des Emmenthalerkäses spielen, müssen wir untersuchen, ob die Schicht unter der Rinde durch dieselben beeinflußt wird, d. h. ob sie, wie es der Fall in den Backsteinkäsen war, gereifter ist als die innere Masse des Käses. Folgende Untersuchungen über Käse 12 zeigen, daß dieses nicht der Fall ist.

Tabelle XXXI.

Emmenthalerkäse 12, $2^1/_2$ Monate alt	Die äußersten 2 mm der Rinde				Die unter der Rinde nächstfolgende 10 mm dicke Schicht				Die innerste Käsemasse			
1 $^0/_{00}$ Formalin	LN	ZN	AN	Acidität	LN	ZN	AN	Acidität	LN	ZN	AN	Acidität
Nach 15 Stunden bei 35° C	19,81	5,81	0,79	15	23,35	8,88	1,15	12	28,96	10,53	1,60	12
Nach 14 Tagen bei Zimmertemp.	59,99	23,52	0,89	37	34,53	10,85	1,35	19	37,61	11,85	1,73	18
Nach 14 Tagen bei 35° C	45,19	28,14	1,49	35	30,75	12,82	1,61	19	36,48	13,73	2,11	18

Vorstehende Tabelle zeigt, daß die Reifung in allen Beziehungen (LN, ZN und AN) am weitesten vorgeschritten ist im Innern eines Emmenthalerkäses, weniger unter der Rinde und am wenigsten in der Rinde. Letztere ist wohl der Sitz von allerlei Mikroorganismen, weshalb Enzyme sich mit der Zeit dort aufspeichern, aber die sorgfältige Reinigung und das Salzen derselben verhindert ihre Zersetzung, sie bleibt hornartig und läßt die Enzyme nicht durch; man sieht deutlich, daß die Schicht unter der Rinde nur ähnliche Enzyme wie die innerste Käsemasse enthält.

Die Enzyme in der Rinde der Emmenthalerkäse erinnern an die

Enzyme in der Schmiere der Backsteinkäse, insofern sie sehr viele Zersetzungsprodukte bilden und die Acidität ziemlich stark vermehren, sie weichen dagegen von letzteren darin ab, daß sie nur wenig Ammoniak erzeugen.

Daß die Enzyme der Rinde des Emmenthalerkäses (freilich nur mit einer genügenden Menge Wassers) imstande sind, mehr Eiweißzersetzungsprodukte zu bilden als die der inneren Käsemasse, könnte uns zu dem Gedanken führen, daß es vielleicht hier ähnlich geht, wie es mit dem Ammoniak in den Backsteinkäsen der Fall ist, nämlich daß sie hauptsächlich an der Oberfläche gebildet werden und von da hineindiffundieren. Freilich wäre es in diesem Falle merkwürdig, daß wir nicht nur ebensoviel, sondern sogar mehr Zersetzungsprodukte finden, je tiefer wir von der Rinde aus in einen Emmenthalerkäse eindringen; doch ließe sich dieses unter der Voraussetzung erklären, daß der Gehalt des Wassers im Käse an löslichen Substanzen wegen lebhafter Diffusionsvorgänge überall gleich wäre, und daß man deshalb mehr lösliche Substanzen in den inneren wasserhaltigen als in den äußeren trockenen Partieen eines Käses finden müßte. Infolge der äußerst feinporigen Struktur eines jungen Emmenthalerkäses haben wir jedoch Grund, anzunehmen, daß die Diffusionsvorgänge hier sehr träge sind und daß eine rasche Ausgleichung in der Zusammensetzung der darin enthaltenen Flüssigkeit nicht stattfindet. Einen Beweis hierfür liefert der Salzgehalt der verschiedenen Schichten eines Emmenthalerkäses. Der eben untersuchte Käse 12 enthält in der Rinde 1,96 Proz. NaCl, unter der Rinde 2,22 Proz. NaCl und in der Mitte 1,75 Proz. NaCl. Diese Zahlen zeigen, daß das Wasser in der Rinde und in der unmittelbar untenliegenden Schicht wohl annähernd denselben Salzgehalt hat, aber daß das Wasser in der inneren Masse bedeutend salzärmer ist. Wenn also die Eiweißzersetzungsprodukte eines Emmenthalerkäses ebenso wie das Kochsalz von der Rinde kämen, so müßte die Schicht unter der Rinde auch reicher an Zersetzungsprodukten sein als die innere Käsemasse. Da dieses nicht der Fall ist, müssen wir daraus schließen, daß die Eiweißzersetzungsprodukte hauptsächlich dort gebildet werden, wo man sie findet.

Der Vollständigkeit halber wurden noch bei einem etwas älteren Emmenthalerkäse, dem 5 Monate alten Käse 14, sowohl die Schicht gerade unter der Rinde als auch die innerste Masse untersucht. Die 2 folgenden Tabellen geben die Resultate dieser Untersuchungen an (s. Tab. XXXII u. XXXIII. p. 833).

Diese 2 Tabellen bestätigen zur Genüge unsere früheren Ergebnisse. Man sieht deutlich, daß die Schicht unter der Rinde weniger gereift ist als die innere Käsemasse, und zwar weil sie wasserärmer und kochsalzreicher ist, und daß sie keine Rindenenzyme, sondern nur ähnliche Enzyme wie die innere Masse enthält. Die Enzyme der Rinde spielen deshalb keine Rolle für die Reifung des Emmenthalerkäses. Aus diesem Grunde werden wir uns im Folgenden nur mit den Enzymen der inneren Käsemasse beschäftigen.

Tabelle XXXII.

Emmenthalerkäse 14, 5 Monate alt	Aeußer.	Inneres
Wasser	32,61	36,20
Fett	32,90	31,14
N-haltige Stoffe	29,10	28,06
NaCl-freie Asche	3,35	3,21
Kochsalz	2,04	1,39
Gesamtstickstoff	4,30	4,09
Lösliche NaCl-freie Asche in Prozenten der gesamten NaCl-freien Asche	38,7	38,7

Tabelle XXXIII.

Die Käsemasse in nicht entfettetem Zustande untersucht				
Emmenthalerkäse 14, 5 Monate alt	Aeußeres		Inneres	
35° C. 1 ‰ Formalin	LN	ZN	LN	ZN
Nach 15 Stunden	29,22	12,57	35,82	17,36
Nach 10 Tagen	34,90	13,65	40,02	18,50
Die Käsemasse in entfettetem Zustande untersucht				
Nach 15 Stunden	29,62	11,74	36,39	17,69
Nach 10 Tagen	32,68	12,29	38,51	17,09

Da die Molkereitechniker wohl nur ausnahmsweise der Meinung sind, daß die Reifung eines Hartkäses von der Rinde ausgeht, so hieße es beinahe gegen Windmühlen fechten, eingehende Untersuchungen über diese Frage anzustellen. Ich habe es doch nichtsdestoweniger gethan, weil durch die Widerlegung dieser Ansicht eine Hauptstütze für die von Vielen in Zweifel gezogene Freudenreichsche Theorie gewonnen wird, nach welcher es die Milchsäurefermente sind, denen die Hauptrolle bei der Reifung der Hartkäse zukommt. Wenn nämlich die Bakterien in der Rinde der Hartkäse deren Reifung nicht beeinflussen, so kann diese Reifung nur von den schon im Käselaibe vorhandenen, nicht streng aëroben Bakterien verursacht werden, und diese sind unter normalen Umständen fast ausschließlich Milchsäurefermente, indem diese Fermente nicht nur in normaler Milch vorherrschend sind, sondern auch vor dem Verkäsen infolge verschiedener Zusätze, wie 12-stündiger Milch, Buttermilch, saurer Molken, Naturlabes oder Reinkulturen von Milchsäurefermenten, eine bedeutende Vermehrung erfahren. Verflüssigende Bakterien, die alle von Schmutz herrühren, werden dagegen aufs sorgfältigste vermieden; jeder Praktiker weiß, daß sauber gewonnene Milch die Hauptsache ist, um gute Käse herstellen zu können. Nie verlangt man, daß die Milch eine gewisse Menge Schmutz enthalten soll, eine Forderung, die man absolut stellen müßte, wenn eine gewisse Menge Schmutzbakterien für die Reifung der Hartkäse unentbehrlich wäre. Auch wäre es schwierig zu verstehen, wie es in ganzen Gegenden, ja in Ländern, die voneinander weit entfernt sind, dieselbe Hartkäsesorte gleichmäßig zu erzeugen gelingen könnte, wenn die Reifung dieser Käsesorte von zufälligen Gästen, die man stets zu vermeiden sucht und die nach den Untersuchungen v. Freudenreich's nur schlecht im Hartkäse gedeihen, bedingt wäre. Mit der Annahme, daß die Milchsäurefermente die Hauptrolle für die Reifung der Hartkäse spielen, braucht natürlicherweise nicht jeder bakterielle Unterschied zwischen den Hartkäsen wegzufallen, indem die Milchsäurefermente mit ihren vielen Kokken- und Bacillenarten eine sehr

zahlreiche Bakteriengruppe bilden, und man in den verschiedenen Hartkäsen, je nach den lokalen Verhältnissen, der Beschaffenheit des Zusatzes und der Fabrikationsweise [1]), bald die Entwickelung des einen, bald des anderen Milchsäurefermentes begünstigen wird.

Nach dieser kleinen Abschweifung kehren wir zum Hauptthema zurück. In der Tabelle XXXIII ist die Enzymwirkung auch in der entfetteten Masse vom Käse 14 ermittelt; man sieht, daß diese nicht so stark ist wie in der nicht entfetteten Käsemasse, die Behandlung mit Aether schwächt also auch die Enzyme der Emmenthalerkäse ab, so wie es der Fall mit den Enzymen der frischen Käsemasse war. Nachfolgende Untersuchungen eines Emmenthalerkäses und eines Edamerkäses (beide vollreif) zeigen das gleiche Verhältnis.

Tabelle XXXIV.

Die Käsemasse in nicht entfettetem Zustande untersucht				
Vollreifer	Emmenthalerkäse 15		Edamerkäse 1	
35° C. 1 ‰ Formalin	LN	ZN	LN	ZN
Nach 15 Stunden	37,04	18,43	23,23	5,09
Nach 10 Tagen	40,54	19,79	36,32	8,57
Die Käsemasse in entfettetem Zustande untersucht				
Nach 15 Stunden	36,03	18,43	22,84	4,74
Nach 10 Tagen	37,92	18,68	37,19	6,06

In Uebereinstimmung mit der kurzen Reifungszeit der Edamerkäse ist im vorstehenden vollreifen Edamerkäse die Bildung des LN und besonders des ZN weit geringer als in einem vollreifen Emmenthalerkäse. Mittels der Formalinätherprobe konnte ich im Edamerkäse keine Galaktase nachweisen. Aus den Versuchen von Boekhout und de Vries [2]) kann man auch schließen, daß die Galaktase nur eine untergeordnete Rolle für die Reifung der Edamerkäse spielt, indem die von diesen Forschern aus bakterienarmer Milch hergestellten Edamerkäse nicht reiften [3]).

Eine fernere Tabelle (XXXV) zeigt die Selbstverdauungsfähigkeit von 3 in der früher citierten Arbeit von v. Freudenreich und mir [4]) unter Ziffern 2, 3 und 6 näher beschriebenen Emmenthalerkäsen, die auf der Molkereischule Rütti aus pasteurisierter

1) Die Fabrikationsweise ist unter anderem für den späteren Gehalt der Käse an freien Säuren bestimmend und dieser ist nicht nur dafür ausschlaggebend, ob die Bakterien überhaupt fortdauernd im Innern der Käse gedeihen können oder nicht, d. h. ob die Käse eine Hart- oder Weichkäsereifung durchmachen, sondern die Menge der freien Säuren wird wahrscheinlich auch innerhalb der Gruppe der Hartkäse einen Einfluß auf das Verhältnis zwischen der Galaktase- und Bakterienwirkung ausüben und gewisse Milchsäurefermente auf Kosten anderer begünstigen.

2) Centralbl. f. Bakt. etc. 2. Abt. 1899. p. 304.

3) Diese Käse scheinen jedoch nicht analysiert worden zu sein, was allein hätte zeigen können, ob das Caseïn wirklich nicht verändert war; so kann z. B. der Kern eines Backsteinkäses ebensoviel LN wie ein gereifter Edamerkäse enthalten und doch vollständig unreif scheinen.

4) Centralbl. f. Bakt. etc. 2. Abt. Bd. VI. 1900. p. 12.

Milch hergestellt worden waren. Diese Käse waren zur Zeit der Untersuchung 4 Monate alt und wurden in entfettetem Zustande untersucht. Käse 2 war mit Tyrothrix tenuis, Käse 3 mit Tyrothrix tenuis und Milchsäurefermenten und Käse 6 nur mit Milchsäurefermenten (Naturlab) geimpft worden. Bei der bakteriologischen Untersuchung dieser Käse fand man die eingeimpften Bakterien wieder, in Käse 2 dazu noch einige der in der Praxis nicht zu vermeidenden Milchsäurefermente.

Tabelle XXXV.

Die Käsemasse in entfettetem Zustande untersucht	Emmenthalerkäse 2, 4 Monate alt		Emmenthalerkäse 3, 4 Monate alt		Emmenthalerkäse 6, 4 Monate alt	
35° C. 1 ‰ Formalin	LN	ZN	LN	ZN	LN	ZN
Nach 15 Stunden	19,72	4,46	19,93	6,29	23,72	8,83
Nach 6 Tagen			25,25		30,00	11,54
Nach 15 Tagen	30,28	6,70	29,77	9,64	32,90	14,88

Man sieht, daß in den Käsen, in welchen die Milchsäurefermente sich am besten entwickelt haben, welche zur Zeit der Untersuchung am meisten ZN enthielten, die Vermehrung des ZN während der Selbstverdauung auch die größte gewesen ist; dieses bestätigt die von v. Freudenreich und mir festgestellte Thatsache, daß es namentlich die Milchsäurefermente sind, welche die Zersetzungsprodukte im Emmenthalerkäse bilden.

Wie in Tabelle XXVIII gezeigt ist, zeichnen sich die Enzyme der Milchsäurefermente durch eine große Empfindlichkeit gegen Säure aus. Die nachfolgende Tabelle bestätigt dieses Verhältnis und zeigt dazu, daß sie Alkalien gegenüber nicht weniger empfindlich sind. Der untersuchte Käse (5) gehört zu der gleichen Versuchsreihe mit Käsen aus pasteurisierter Milch wie die 3 soeben erwähnten Käse; er war mit Milchsäurefermenten geimpft und wurde ebenfalls in entfettetem Zustande untersucht.

Tabelle XXXVI.

Emmenthalerkäse 5	Ohne Zusatz		Mit 2 ‰ Milchsäure		Mit 4 ‰ Milchsäure		Mit 2 ‰ Na_2CO_3		M. 5 ‰ Na_2CO_3
35° C. 1 ‰ Formalin	LN	ZN	LN	ZN	LN	ZN	LN	ZN	LN
Nach 15 Stunden	19,63	5,63	17,22	5,56	29,30	5,36	48,81	5,21	72,29
Nach 6 Tagen	24,89	7,38	18,98	5,66	29,81	5,12	44,16	5,37	68,97

Diese Tabelle zeigt, daß sowohl 2 ‰ Milchsäure als auch 2 ‰ Soda die Enzymwirkung aufheben. Ferner sieht man, daß selbst ganz verdünnte Sodalösungen das Caseïn in hohem Grade auflösen. Nach 6 Tagen hat diese Auflösung wieder etwas abgenommen, was wahrscheinlich davon herrührt, daß ein Teil der Soda allmählich von den saueren Phosphaten des Käseextraktes neutralisiert wird. Das

Ergebnis, daß die proteolytischen Enzyme der Milchsäurefermente Säuren gegenüber so empfindlich sind, zeigt, wie notwendig es ist, das Caseïn fast neutral zu halten, wenn man die Einwirkung der Milchsäurefermente auf diesen Proteïnstoff studieren will.

Während also die Bakterienenzyme des Emmenthalerkäses empfindlicher gegenüber Säuren und Alkalien als die Galaktase sind, so zeigen die ersteren, wie es aus nachfolgenden Versuchen hervorgeht, der Wärme gegenüber eine höhere Widerstandsfähigkeit als letztere. Zu diesen Versuchen wurde sowohl der ebenerwähnte Käse 5 als auch ein aus nicht pasteurisierter Milch hergestellter, in allen Beziehungen normaler, 4 Monate alter Emmenthalerkäse (7) in entfettetem Zustande verwendet.

Tabelle XXXVII.

LN im	Emmenthalerkäse 5, 4 Monate alt			Emmenthalerkäse 7, 4 Monate alt						
35° C. 1 °/₀₀ Formalin	Nicht erwärmt	½ Stunde auf 85 bis 90° C erwärmt	½ Stunde auf 95° C erwärmt	Nicht erwärmt	2 Std. auf 50° C erw.	½ Stunde auf 60° C erwärmt	70° C	80° C	85 bis 90° C	95° C
Nach 15 Stunden	19,63	17,75	17,20	31,73	30,92			30,20		28,57
Nach 6 Tagen	·24,89	20,23	17,20	38,20	33,90	37,13	35,15	32,11	32,11	28,49

Diese Tabelle zeigt, daß die Bakterienenzyme des Emmenthalerkäses schon durch eine verhältnismäßig geringe Erwärmung abgeschwächt werden, aber daß man sie trotzdem über 90° C erwärmen muß, um sie vollständig abzutöten.

Bevor wir uns von den Emmenthalerkäsen verabschieden, möchte ich kurz den ganzen Reifungsvorgang dieser Käsesorte auf eine mit den Ergebnissen dieser Arbeit übereinstimmende Weise schildern:

Die Reifung des Emmenthalerkäses besteht aus verschiedenen Gärungen und zwei gleichzeitig verlaufenden Prozessen, das Trocknen und das Salzen.

Unter Gärung verstehe ich hier nicht, wie die Praktiker, nur eine solche, die von Gasentwickelung begleitet wird, sondern jeden chemischen Abbauprozeß, welcher seine Entstehung organisierten oder unorganisierten Fermenten zu verdanken hat.

Das Salzen trägt zur Geschmackbildung im Käse bei, es reinigt die Rinde und unterstützt das Trocknen. Beide Prozesse wirken hemmend auf die Gärungen ein, daher kommt es, daß letztere etwas langsamer in den äußeren Schichten als in der inneren Masse der Hartkäse vor sich gehen.

Wie in anderen Käsen, findet auch hier vor der eigentlichen Käsegärung, den Gärungen des Caseïns, eine Milchsäuregärung statt. Während dieser letzteren dürfen beim Emmenthalerkäse keine merkbaren Mengen Gas gebildet werden; denn, wie ich früher gezeigt

habe [1]), hat die Vergärung des Milchzuckers nichts mit der normalen Lochbildung im Emmenthalerkäse zu thun; sie ist in wenigen Tagen beendigt und ihre Bedeutung liegt darin, der Käsemasse eine leicht sauere Reaktion zu verleihen, welche den Milchsäurefermenten das Uebergewicht anderen Bakterien im Käse gegenüber sichert. Um die mit der Umbildung des Caseïns verlaufende normale Lochbildung innerhalb der rechten Grenzen halten zu können, setzt man das Trocknen und Salzen einige Zeit fort, bevor man die Käse in die für die Hauptgärung günstige höhere Temperatur bringen darf. In dieser einleitenden Periode wirkt die Galaktase schon etwas auflösend auf das Caseïn und die Milchsäure wird allmählich abgestumpft.

Da die von v. Freudenreich als spezifisch angesehenen Reifungserreger des Emmenthalerkäses, gewisse Milchsäurebacillen, sich bei höherer Temperatur am besten entwickeln, so ist es nützlich, die Emmenthalerkäse in ein geheiztes Lokal zu bringen, um die Hauptgärung einzuleiten. Ist dieses geschehen, so wird wahrscheinlich wie in jeder gärenden Masse die Temperatur im Innern von selber steigen, und zwar um so höher, je größer der Käse ist. Während der Hauptgärung schreitet die Umbildung des Caseïns weiter, die Hauptmenge der für den Geschmack des Emmenthalerkäses so wichtigen Eiweißzersetzungsprodukte wird gebildet, und die Lochbildung wird beendigt.

Das Trocknen geht, auch bei hoher Feuchtigkeit des Lokals, stärker vor sich bei höherer als bei niederer Temperatur, die Käse werden deshalb am Ende der Hauptgärung fest und müssen jetzt, um nicht ganz auszutrocknen, in einen kühleren Raum gebracht werden. Hier vollzieht sich dann die Nachgärung der Käse. Während derselben sterben die Bakterien langsam ab (die Emmenthalerkäse sind nämlich jetzt zu wasserarm für eine weitere Bakterienentwickelung), aber deren Enzyme wirken weiter und erhöhen dadurch noch eine Zeit lang die Menge der Eiweißzersetzungsprodukte; die Käse werden gleichzeitig fertig gesalzen, und die sogenannte „Thränenbildung“ tritt ein. Da ich über letztere Erscheinung nie eine Erklärung gelesen habe, werde ich es an diesem Orte versuchen, eine solche zu geben.

Damit die in der Käsemasse enthaltene Flüssigkeit in die Löcher austreten könne, muß sie beweglicher werden. Dieses kann auf zwei verschiedene Weisen zustande kommen, teils dadurch, daß die Poren der Käsemasse größer werden, teils dadurch, daß die Flüssigkeit selbst eine geringere Viscosität annimmt. Die Reifungsvorgänge bringen beides mit sich. Während der Reifung eines Emmenthalerkäses geht nämlich etwa ein Drittel des Caseïns in eine lösliche Form über und löst sich demgemäß soweit als möglich im Wasser des Käses, wodurch das feinporige Caseïngewebe, welches die Emmenthalerkäsemasse ursprünglich ausmachte, großporiger werden muß. Die darin enthaltene Flüssigkeit ist anfänglich eine Eiweißlösung, und eine solche hat bekanntlich eine große Viskosität; erst wenn diese

1) Studien über die Lochbildung in den Emmenthalerkäsen. (Centralbl. f. Bakt. etc. 2. Abt. Bd. IV. 1898. p. 217.)

Lösung mit der Zeit tiefer zersetzt wird und ihre Trockensubstanz zum größten Teil in krystallisierbare Körper umgewandelt wird, wie es im Emmenthalerkäse der Fall ist, wird sie leichter beweglich; sie ist dann nicht länger auf Diffusionsprozesse, wie das Wasser im Lehmboden beschränkt, sondern sie kann jetzt, ähnlich wie das Grundwasser in den Sandschichten, frei sich bewegen und sich in Löchern ansammeln. Schneidet man einen solchen Käse durch, so sieht man gewöhnlich die Flüssigkeit hervorquellen. Daß sich nur Tropfen und nie größere Mengen Flüssigkeit in den Löchern ansammeln, rührt von dem Umstande her, daß die Gase, welche von den zuerst eingeflossenen Tropfen verdrängt wurden, die Flüssigkeit in den feinen Poren der Käsemasse ersetzen und dadurch ein Hindernis für ein weiteres Eindringen bilden. Zu der Ausdehnung der Poren in einem Emmenthalerkäse trägt das Salzen vielleicht auch bei. Wegen seiner wasserentziehenden Fähigkeit übt nämlich das Kochsalz auf weiche organische Substanzen eine einschrumpfende Wirkung aus. Da aber in einem Hartkäse die Spannung der Rinde sich jeder Verkleinerung des schwammigen Caseïngewebes widersetzt, so kann dessen Neigung zur Einschrumpfung nur eine Ausdehnung der Poren zur Folge haben.

Die in die Löcher (Augen) ausgeflossenen Tropfen, von den Praktikern „Thränen" oder „Salzlake" genannt, können selbstverständlich keine andere Zusammensetzung haben als die übrige Flüssigkeit der inneren Käsemasse, sie müssen eine gesättigte Lösung aller in einem Emmenthalerkäse vorkommenden löslichen Bestandteile sein. Mit der fortschreitenden Reifung wird mehr und mehr von den in dieser Flüssigkeit gelösten Proteïnkörpern in schwerlösliche Eiweißzerseztungsprodukte umgebildet, welche dann, besonders wenn gleichzeitig das Trocknen und Salzen weiter gehen, zum Teil auskrystalliseren müssen. Dadurch entstehen die weißen Krusten in den Löchern und die kleinen, weißen, steinharten Körner, die man oft überall in der ganzen Käsemasse verteilt sehen kann. Diese Körner, die sogenannten „Salzsteine", enthalten nur Spuren von anorganischen Salzen und bestehen, wie ich gefunden habe, fast ausschließlich aus in Wasser schwerlöslichen Eiweißzersetzungsprodukten (unter anderem Tyrosin). Herr Steinegger, Chemiker der Molkereischule Rütti, hat sich seither eingehend mit den Salzsteinen beschäftigt und behält sich weitere Mitteilungen über dieselben vor.

Ist die Umbildung des Caseïns während der Käsereifung eine echte oder unechte Gärung?

In früheren Zeiten nannte man eine Gärung echt oder unecht je nachdem sie von organisierten oder unorganisierten Fermenten hervorgerufen wurde. Heutzutage, wo es so gut wie sicher festgestellt ist, daß alle Gärungen nur durch unorganisierte Fermente, „Enzyme", zustande kommen, mögen dieselben von Mikroorganismen gebildet sein oder nicht, müssen wir die Begriffe echte und unechte Gärung entweder ganz fallen lassen, oder sie unserem jetzigen Wissen derart anpassen, daß sie die früheren Bezeichnungen so weit wie möglich decken. Indem ich das letztere versuche, definiere ich

als Gärung jeden Abbauprozeß, welcher seine Entstehung Enzymen verdankt.

Ist der Abbauprozeß ein tiefgehender, mit oder ohne Oxydationsvorgängen, und dient er besonders dazu, Energie zu erzeugen, so ist die Gärung eine echte.

Ist der Abbauprozeß dagegen nur gering, und hat er besonders zum Zwecke, die vorliegenden Stoffe in eine leichte diffundierbare oder assimilierbare Form überzuführen, so ist die Gärung eine unechte, oder besser gesagt, eine „vorbereitende".

Von diesem Gesichtspunkte aus entsprechen die echten Gärungen einem Atmungsprozeß und die unechten Gärungen einem Verdauungsprozeß.

Daß diese Definitionen sich fast vollständig mit den früheren Auffassungen echter und unechter Gärungen decken, wird man leicht einsehen. Was man nämlich früher als eine echte Gärung bezeichnete, war eine solche, die, ohne daß man sich darüber klar geworden war, sich innerhalb der Mikroorganismen vollzog; was man dagegen eine unechte Gärung nannte, war eine solche, die entweder ganz ohne Mitwirkung von Mikroorganismen oder durch die von denselben ausgeschiedenen Enzyme, also außerhalb ihrer Zellen, stattfand. Dieses wird gewöhnlich auch mit den neuen Definitionen übereinstimmen.

Enzyme nämlich, welche zur Aufgabe haben, den Mikroorganismen Energie zu verleihen, werden wohl gewöhnlich, wie es Ed. Buchner für die Zymase gezeigt hat, innerhalb der Zelle wirksam sein, damit die freigewordene Energie in vollem Maße den Mikroorganismen zu Gute kommen kann. Diese Enzyme werden deshalb gewöhnlich nicht durch die lebende Zellwand der betreffenden Mikroorganismen diffundieren können.

Enzyme dagegen, welche zur Aufgabe haben, die Nährstoffe leichter diffundierbar zu machen, müssen bei den Mikroorganismen immer außerhalb der Zelle wirksam sein und deshalb leicht durch die Zellwand der betreffenden Mikroorganismen diffundieren können.

Doch kommen auch Fälle vor, in welchen unechte Gärungen außerhalb der Zelle von echten Gärungen begleitet sind (z. B. die Trypsinverdauung), und umgekehrt Fälle, in welchen unechte Gärungen sich innerhalb der Zelle vollziehen, nämlich solche kleinere Abbauprozesse, die dazu dienen, die schon aufgenommenen Stoffe für nachfolgende Aufbauprozesse oder für nachfolgende echte Gärungen geeigneter zu machen. (Das Invertieren des Rohrzuckers in den Zellen von Monilia candida vor der Alkoholgärung bildet ein Beispiel der letzteren.)

Betrachten wir jetzt speziell die verschiedenen Umbildungen des Caseïns, so müssen wir sie nach den obigen Definitionen als unechte oder echte Gärungen auffassen, je nachdem das Caseïn nur löslich gemacht wird, oder es hauptsächlich weiter zersetzt wird. Nur die Pepsinverdauung ist ein Beispiel einer streng unechten Gärung. Die Galaktase- und noch mehr die Trypsinverdauung sind nicht ausschließlich unecht, weil vielleicht die Galaktase und das Trypsin eine

Mischung mehrerer Enzyme sind. Daß bei den Mikroorganismen das Auflösen und die weitere Zersetzung des Caseïns von verschiedenen Enzymen verursacht werden können, hat das Verhalten der Schmiere eines Backsteinkäses deutlich gezeigt. Die von den Mikroorganismen hervorgerufenen Umbildungen des Caseïns sind wohl immer als eine Mischung von unechter und echter Gärung aufzufassen, denn einerseits wäre es für einen Mikroorganismus von geringem Nutzen, ein auflösendes Enzym „Casease“ auszuscheiden, wenn er nicht auch nachher das löslich gemachte Caseïn als Energiequelle verwenden könnte[1]) und andererseits wäre ein Mikroorganismus nur fähig, das aufgelöste Caseïn zu zersetzen, aber unfähig, es selbst löslich zu machen, so wäre leicht damit in der Natur die Gefahr eines Verhungerns verbunden. Die Fähigkeit Casease zu bilden, ist jedoch bei den verschiedenen Mikroorganismen, welche das Caseïn angreifen können, höchst verschieden. Während Duclaux' Tyrothrixarten bekanntlich sehr viel Casease ausscheiden, bilden die Milchsäurefermente so wenig derselben, daß ich sie nicht habe nachweisen können. Setzt man nämlich selbst eine große Menge einer durch Papier filtrierten, mit Kreide neutral gehaltenen Milchkultur des von v. Freudenreich mehrmals erwähnten Bacillus ε zu frischer Milch hinzu und dazu noch 1 ‰ Formalin, so scheidet sich wegen des in der ε Kultur vorhandenen milchsauren Kalks des Caseïns bei 35° C nach kurzer Zeit aus[2]), aber eine größere Auflösung des Caseïns als die, welche die in der Milch vorhandene Galaktase mit 1 ‰ Formalin für sich allein hervorbringen kann, findet selbst nach Monaten nicht statt. Daß nichtsdestoweniger die Milchsäurefermente ein auflösendes Enzym ausscheiden müssen, ist einleuchtend, sonst könnten sie nicht, wie Tabelle XXVII zeigt, 26—32 Proz. des Caseïns in sterilisierter Milch auflösen. Diese Auflösung ist freilich verhältnismäßig gering, aber dann ist wiederum die weitere Zersetzung des löslich gemachten Caseïns um so größer, was deutlich zeigt, daß die Milchsäurefermente besser imstande sind, echte als unechte Gärungen im Caseïn hervorzurufen. Da nun diese Fermente eine wesentliche Rolle bei der Reifung der Hartkäse spielen, ist es einleuchtend, daß die Umbildung, welche das Caseïn während der Reifung der Hartkäse erleidet, zum Teil als eine echte Gärung aufzufassen ist.

Von vornherein ist natürlich anzunehmen, daß die Enzyme der echten Gärungen ebensowohl wie die Enzyme der unechten Gärungen nach dem Tode der Mikroorganismen ihre Thätigkeit fortsetzen können. Die bekannten Oxydationsversuche von Jaquet[3]) mit abgestorbenem Lungengewebe sprechen hierfür. Innere Enzyme, wenigstens diejenigen, welche sehr widerstandsfähig sind, würden sogar mit der Zeit nach der Auflösung der Zellwand frei werden können. Be-

---

1) Natürlicherweise wird diese Energiequelle überflüssig, sobald die Mikroorganismen auf eine bequemere Weise ihre Energie aus anderen Quellen schöpfen können, so wie es der Fall mit den Milchsäurefermenten ist, solange diese Milchzucker in großer Menge zur Verfügung haben.

2) Daß es nicht die Wirkung eines Labenzymes ist, geht daraus hervor, daß eine gekochte ε-Kultur die gleiche Wirkung ausübt.

3) Société de Biologie. 1892.

finden sich die abgestorbenen Zellen in einer zum Teil vergorenen Flüssigkeit, so würde ein Freiwerden der inneren Enzyme nur deren Thätigkeit aufheben, indem sie, wie Buchner es gezeigt hat, nur in ziemlich konzentrierten Nährflüssigkeiten wirken können. Befinden sich dagegen die abgestorbenen Zellen in einer festen Masse, wie im Käse, so würde ein Freiwerden der inneren Enzyme die Thätigkeit derselben nur erleichtern können. Da während der langsamen Nachgärung der Emmenthalerkäse fast ausschließlich Zersetzungsprodukte gebildet werden, ist es wahrscheinlich, daß diese Nachgärung namentlich den mehr oder weniger freigewordenen inneren Enzymen der Milchsäurefermente zu verdanken ist.

Anders als bei den Hartkäsen verhält sich der Reifungsverlauf der Weichkäse, welche hauptsächlich von außen reifen. Unabhängig davon, ob die an der Oberfläche eines solchen Käses sich entwickelnden Mikroorganismen vorzugsweise echte oder unechte Gärungen des Caseïns hervorrufen können, sind die Enzyme der unechten Gärungen am besten imstande, in die innere Käsemasse einzudringen. Die Gärungen, welche im Inneren eines solchen Weichkäses vor sich gehen, müssen deshalb hauptsächlich unechte sein. Die hier vorkommenden weiteren Zersetzungsprodukte sind entweder an der Oberfläche des Käses gebildet worden und hinein diffundiert, oder sie rühren von den Bakterien im Innern des Käses her. So verdankt, wie gezeigt, das Ammoniak im Inneren eines Backsteinkäses seine Entstehung der vereinigten Wirkung dieser beiden Ursachen. Je dünner ein Weichkäse ist, desto schneller wird er bekanntlich reifen, aber desto mehr wird auch die ganze Masse von den an der Oberfläche vor sich gehenden echten Gärungen beeinflußt. Ein Camembertkäse reift demgemäß viel schneller als ein Limburgerkäse, aber enthält in reifem Zustande auch entschieden mehr Eiweißzersetzungsprodukte.

Die Backsteinkäse liefern, wie die Tabelle XIII uns gezeigt hat, ein ausgesprochenes Bild einer unechten Gärung, fast die ganze Caseïnmenge ist löslich, aber nur in geringem Maße weiter zersetzt worden. Trotz dem Enzymreichtum der Schmiere eines Backsteinkäses zeigt ein Extrakt derselben doch äußerst geringe auflösende Wirkungen; es hat den Anschein, als ob die Enzyme sich schwierig ausziehen lassen. Verreibt man dagegen einen kleinen Teil der Schmiere eines Backsteinkäses mit einem Teil des weißen Kernes desselben Käses, so sieht man deutlich, daß die Schmiere einen großen Ueberschuß an freien Enzymen enthält.

Die nächste Tabelle (p. 842) zeigt die Vermehrung des LN und ZN im Kerne des Romadurkäses 6, sowohl ohne als mit Zusatz eines Teils der Schmiere desselben Käses. Für 8 g Kern habe ich 2 g Schmiere verwendet. In den Berechnungen wurde natürlicherweise die Menge des LN und ZN, welche 2 g dergleichen Schmiere unter den gleichen Selbstverdauungsbedingungen ihrerseits enthielt, in Abzug gebracht.

Die Hauptergebnisse dieser Arbeit lassen sich in folgenden zwei Sätzen zusammenstellen:

1) Die Umbildung des Caseïns während der Reifung der Backsteinkäse beruht hauptsächlich auf einer

von der Oberfläche ausgehenden unechten Hefen- oder Bakteriengärung, die, jedenfalls in der ersten Zeit, von einer durch die ganze Käsemasse sich vollziehenden Pepsinverdauung unterstützt wird.

2) Die Umbildung des Caseïns während der Reifung des Emmenthalerkäses beruht auf einer gleichmäßig durch die ganze Käsemasse vor sich gehenden sowohl unechten als auch echten Bakteriengärung, die wahrscheinlich in der ersten Zeit von der Galaktase unterstützt wird.

Tabelle XXXVIII.

Kern vom Romadurkäse 6, 1 Monat alt		
35° C. 1 °/₀₀ Formalin	LN	ZN
Nach 15 Stunden	9,54	4,87
Nach 10 Tagen	20,01	6,78
Nach 10 Tagen unter Einfluß der Enzyme der Schmiere	41,27	11,97

Anhang.

Einige Bemerkungen über die Bestimmung der löslichen stickstoffhaltigen Substanzen im Käse.

Tabelle XXXIX.

Die Käsemasse in nicht entfettetem Zustande untersucht								
15 Stunden extrahiert	Emmenthalerkäse 14 Aeußeres		Emmenthalerkäse 14 Inneres		Emmenthalerkäse 15		Edamerkäse 1	
35° C. 1 °/₀₀ Formalin	LN	ZN	LN	ZN	LN	ZN	LN	ZN
Zuerst ½ Stunde auf 95° C erwärmt	27,26	11,86	33,60	16,71	36,00	18,11	19,65	4,91
Nicht erwärmt	29,22	12,57	35,82	17,36	37,04	18,43	23,23	5,09
Die Käsemasse in entfettetem Zustande untersucht								
Zuerst ½ Stunde auf 95° C erwärmt	25,82	11,24	31,39	15,62	32,89	17,82	18,77	4,06
Nicht erwärmt	29,62	11,74	36,39	17,69	36,03	18,43	22,84	4,74

In vorstehender Tabelle, die sich auf mehrere Hartkäse bezieht, zeigt die nicht entfettete Masse durchaus nicht kleinere Zahlen für LN und ZN als die entfettete, ja, wenn man die Extraktion durch halbstündiges Erwärmen in kochendem Wasser einleitet, bekommt man sogar regelmäßig die größten Zahlen in der nicht entfetteten Masse. Man darf hieraus schließen, daß man sich das mühsame Trocknen und Entfetten der Hartkäse ersparen kann. Wenn nur die Käsemasse in fein zerkleinertem Zustande im Wasser verteilt wird, so ist das Fett für die Extraktion nicht mehr hinderlich. Das Zerkleinern des Käses geschieht, wie schon erwähnt, durch sorgfältiges

Zerreiben der abgewogenen Masse mit Wasser. In der Reibschale festklebende Käseteilchen werden mit Wasser von 45° C leicht abgespült[1]).

Wenn diese Methode für die schwer extrahierbaren Hartkäse verwendbar ist, so ist sie auch um so eher für die leicht löslichen Weichkäse zu verwenden. Hier ist die Methode um so empfehlenswerter, weil die Weichkäse sich nur mit Sand gemischt schnell trocknen lassen und man nachher nur schwierig aus einer Mischung von zwei so ungleichen Bestandteilen, wie Sand und Käse, eine Durchschnittsprobe abwägen kann.

Um von einem Hartkäse eine Durchschnittsprobe zu erhalten, zerreibt man wie gewöhnlich die Masse mit einem Reibeisen. Es ist am besten, vorher die äußerste, etwa 1 cm dicke Schicht zu entfernen, weil diese eine von der übrigen Käsemasse ziemlich abweichende Zusammensetzung hat.

Von einem Weichkäse liefert eine Querscheibe, aus der Mitte genommen, eine hinreichend genaue Durchschnittsprobe. Doch ist am besten die äußerste, braune, sehr enzymreiche, in allen Beziehungen abnormale Schicht zu entfernen.

Mit dem Nachweis von Enzymen im Käse ist es auch klar geworden, daß man nur durch Erwärmung der Käsemasse in kochendem Wasser konstante Resultate für die Menge der verschiedenen löslichen stickstoffhaltigen Substanzen erhalten dürfte. Diese wird nämlich, solange die Enzyme nicht zerstört sind, im höchsten Grade von der Extraktionsdauer und Extraktionstemperatur beeinflußt.

Extrahiert man die Käsemasse nur 15 Stunden bei Zimmertemperatur, so ist für einen Emmenthalerkäse die Enzymwirkung freilich sehr gering, aber ausgeschlossen ist sie nicht, da man gewöhnlich mehr ZN in einer nicht erwärmten als in einer erwärmten Käsemasse findet. Extrahiert man bei 35° C, so ist dieses immer der Fall, wie die Tabelle XXXIX zeigt. Diese Tabelle zeigt einen noch größeren Unterschied zwischen dem LN in erwärmter und nicht erwärmter Käsemasse, ein Unterschied, welcher zum größten Teil daher rührt, daß viele Proteïnkörper beim Erwärmen ausgefällt werden, aber ohne Zweifel trägt die Enzymwirkung auch dazu bei. Bei Backsteinkäsen sind diese Unterschiede noch markierter, weil hier sowohl die Ausfällung der Proteïnstoffe beim Erwärmen als auch die Enzymwirkungen größer sind.

Von vornherein ist es indessen einleuchtend, daß ein Käseextrakt, bei Kochtemperatur hergestellt, nicht dazu dienen kann, die Menge der löslichen Proteïnstoffe im betreffenden Käse im natürlichen Zustande zu bestimmen. Das Bild des Reifungsgrades wird noch weniger treu, wenn man vor dem Erwärmen Säure zusetzt. Durch dieses in Amerika gebräuchliche Verfahren erhält man Extrakte, die viel leichter klar zu filtrieren sind, aber es kann dasselbe unter Umständen zu ganz falschen Schlüssen führen, so z. B. fände man, daß in einem Backsteinkäse nicht mehr LN in der Speckschicht als in

1) Aus einem kürzlich empfangenen Berichte „Sixteenth Annual Report of the Agricultural Experiment Station of the University of Wisconsin. 1899“ sehe ich, daß ein ähnliches Verfahren für Cheddarkäse verwendet worden ist.

dem inneren weißen Kern enthalten ist, und daß ein gereifter Backsteinkäse weniger LN als ein gereifter Emmenthalerkäse aufweist.

Wenn man nicht das umständliche und auch nicht sehr zuverlässige Filtrieren durch die Chamberland'sche Kerze verwenden will[1]), ist man für Milchuntersuchungen freilich gezwungen, sich des Säureverfahrens zu bedienen, aber für Käse, deren Extrakte sich gut durch Papier filtrieren lassen, ist es zu verwerfen.

Trotz der Enzymwirkungen im Käse während der Extraktionsdauer giebt die Extraktion ohne Erwärmung doch das treueste Bild des Reifungsgrades eines Käses. Man soll nur die Extraktion bei nicht zu hoher Temperatur vornehmen und sie nicht länger dauern lassen als notwendig. Die von Bondzynski vorgeschlagene 15-stündige Extraktionszeit ist wahrscheinlich viel zu lang, indem, wie anfangs dieser Arbeit erwähnt, eine Käsemasse schon nach einer halbstündigen Erwärmung in kochendem Wasser vollständig extrahiert ist.

Noch ein Wort über die Sulfatreduktion in den Gewässern.

Von Professor Dr. **M. W. Beijerinck.**

Saltet's Aufsatz in diesem Blatte[2]), woraus ich ersah, daß er über die verwandtschaftlichen Beziehungen seiner Bakterie in Zweifel gekommen war, veranlaßte mich, eine Kultur derselben zu untersuchen. Es stellte sich aber heraus, daß es sich, wie ich das früher auf Grund seiner eigenen Ansicht ausgesprochen hatte, thatsächlich um eine Coli-Form handelt, und zwar um Aërobacter coli var. infusionum, sehr allgemein in Pflanzeninfusen, in Mehl, im Boden und in Grabenwasser[3]). Einige Versuche mit dieser Bakterie, Sulfatreduktion zu bewirken, gaben, wie früher, ein vollständig negatives Resultat, so daß Saltet's Behauptungen unrichtig sind. Einstweilen bleibt mein Spirillum desulfuricans also die einzige bekannte Art, wodurch Sulfatreduktion stattfindet.

Referate.

Marbach, A., Jahresbericht über die Fortschritte der Gärungstechnik mit besonderer Berücksichtigung der Preßhefe- und Spiritusindustrie. (Oesterreichische Chemikerzeitung. Jahrg. III. No. 5.)

1) Vergl. diese Zeitschr. Bd. VI. p. 39.
2) Centralbl. f. Bakteriol. etc. II. Abt. Bd. VI. 1900. p. 699.
3) Für die Beschreibung verweise ich auf Centralbl. f. Bakteriol. etc. II. Abt. Bd. VI. 1900. p. 205.

Der Bericht nimmt Bezug auf: die Arbeit Buchner und Rapp's über die zellfreie Gärung, die Untersuchungen Korf's über den Einfluß des Sauerstoffs auf Gärung, Gärungsenergie verschiedener Heferassen unter variabelen Ernährungsbedingungen, Lange's über den verschiedenen Zymasegehalt eiweißreicherer und eiweißärmerer Heferassen, Kusserow und König's, Lange's und Bücheler's über den Einfluß der hauptsächlichen im Arbeitswasser vorkommenden Mineralsalze auf die Gärung, Effront's über die Gewöhnung der Hefe an die Dextrinvergärung, Dauphin's über die Erleichterung der Einführung des Amyloverfahrens im Brennereibetriebe. Weiter geht Verf. ein auf die Bestrebungen in den Brennereien, Reinkulturen von Hefen, Milchsäurebakterien und dem japanischen Koji einzuführen, sowie auf verschiedene Verfahren von Kafka, Marbach, Head, die sich mit der Vorbereitung der Melasse zur Preßhefe-Spiritusfabrikation beschäftigen.

Wehmer's Entdeckung, daß man bei der Spirituserzeugung durch Anwendung von Milchsäure an Stelle der Milchsäurelösung sehr gute Resultate erzielen kann, scheint neuerdings mehr Aussicht für die Praxis zu gewinnen, da neuerdings Schimmelpilze entdeckt sein sollen, die Stärke in Milchsäure überzuführen vermögen, wodurch der Preis der letzteren wesentlich erniedrigt würde.

Endlich befaßt sich Verf. noch mit den Mitteilungen Traillard's über das künstliche Altern des Branntweins mittels Ozon.

Appel (Charlottenburg).

Bokorny, Th., Die Enzyme der Hefe. (Wettendorfer's Zeitschr. f. Spiritus-Industrie. 1900. 15. Mai.)

Es werden die verschiedenen in der Hefe Saccharomyces bis jetzt aufgefundenen Enzyme, Invertin, proteolytische Fermente, Zymase, Laktase, ein Glykogen und ein Maltose hydrolisierendes Ferment kurz besprochen. Diese Fermente zerstören einander zum Teil, wenn sie im Hefepreßsaft nebeneinander gelöst enthalten sind; so wird die Zymase durch eiweißverdauende Fermente zerstört (E. Buchner).

Wie sind solche Enzyme nebeneinander in der lebenden Hefezelle möglich?

Verf. beantwortet die Frage dahin, daß vielleicht eine räumliche Trennung derart besteht, daß die Zymase, welche ohnedies als etwas sehr Plasmaähnliches anzusehen ist (Neumeister), im Protoplasma nach ihrer Entstehung verbleibt, während andere Fermente ihren Sitz in der Vakuolenflüssigkeit nehmen.

Beim Auspressen der Hefe (Herstellung des Hefepreßsaftes) mischen sich alle Säfte und nun können die Enzyme zerstörend aufeinander wirken.

Autorreferat.

Aderhold, R., Zwei gefährliche Erkrankungsfälle unseres Kernobstes. (Proskauer Obstbau-Zeitung. Jahrg. V. No. 3.)

In Südschweden und Ostpreußen sind in den letzten Jahren Schädigungen einer Reihe Birn- und Aepfelsorten durch eine bisher noch nicht einwandfrei nachgewiesene Krankheit beobachtet worden. In beiden Fällen beginnt die Erkrankung an den Blütentrieben, verbreitet sich von da auch über älteres Holz, das, ebenso wie die

jungen Triebe, vertrocknet. Der ostpreußische Beobachter berichtet noch von Faulstellen, die als erste Krankheitserscheinung am Grunde der Blütentriebe sich bemerkbar machen, und die sich von da auf die Bastschicht des älteren Holzes verbreiten. Aderhold spricht die Vermutung aus, daß die beiden Erkrankungen identisch sind und daß der schwedische Beobachter die Faulstellen nur übersehen hat. Auf Grund des Auftretens dieser Faulstellen erscheint es ihm nicht unwahrscheinlich, daß die Krankheit mit dem in Amerika beschriebenen „fireblight“, der durch Bacillus amylovorus hervorgerufen werden soll, identisch ist. Appel (Charlottenburg).

Anmerkung bei der Korrektur: Inzwischen ist A. zu der Ansicht gekommen, daß es sich hier um eine Monilia-Erkrangung handelt (vergl. Centralbl. f. Bakt. etc. II. Abt. Bd. VI. p. 629. Anm.) Der Ref.

Shirai, M., Ueber den genetischen Zusammenhang von Roestelia koreaënsis P. Henn. und Gymnosponargium japonicum Sydow. (Zeitschrift für Pflanzenkrankheiten. Bd. X. 1900, Heft 1.)

In Japan kommt auf den Birnbäumen eine Roestelia koreaënsis vor, von der gewöhlichen R. cancellata unterschieden durch cylindrische, an der Spitze wimperartig zerreißende Aecidien, welche an diejenigen der R. cornuta erinnern. Verf. beweist durch Kultur- und Infektionsversuche, daß dieser Pilz mit dem Gymnosporangium japonicum, dessen zahnförmiges, gelblichbraunes Sporenlager auf Juniperus chinensis wächst, im Generationswechsel steht. Die bei der Keimung der Teleutosporen gebildeten Sporidien lassen ihre Keimschläuche durch die Außenwand der Epidermiszellen der Blätter von Pyrus sinensis eindringen. Unter Glasglocken damit angestellte Infektionsversuche ergaben auf den Birnblättern nach 14 Tagen, bisweilen schon nach 7 Tagen, die mit Spermogonien versehenen gelben Blattflecke, nach 5 Wochen die eigentlichen Aecidien. Frank (Berlin).

Neue Litteratur,

zusammengestellt von

San.-Rat Dr. Arthur Würzburg,

Bibliothekar im Kaiserl. Gesundheitsamte in Berlin.

Allgemeines über Bakterien und Parasiten.

Hoton, L., Apparail à désinfection par l'aldéhyde formique gazeuse. Apparail Hoton. (Mouvement hygién. 1900. No. 8. p. 379—383.)

Systematik, Morphologie und Biologie.

Gabba, L., La fermentazione alcoolica senza cellule di lievito. (Annuar d. soc. chimica di Milano. 1899. Fasc. 2—4.)

Green, E. E., Remarks on Indian scale-insects (Coccidae) with descriptions of new species. (Ind. Mus. notes. Vol. V. 1900. No. 1. p. 1—13.)

Howard, L. O. u. Marlatt, C. L., Ueber die Heimat der San-José-Schildlaus. (Insektenbörse. 1900. No. 30. p. 235.)

Jacoby, M., On new genera and species of phytophagous coleoptera from South and Central Africa. (*Proceed. of the zoolog. soc. London 1900. Part II. p. 203—268.*)

v. Jaczewsky, A., Neue und wenig bekannte Uredineen aus dem Gebiete des europäischen und asiatischen Rußland. (Beibl. z. Hedwigia. Bd. XXXIX. 1900. Heft 4. p. 129—134.)

Léger, L., Sur un nouveau sporozoaire des larves de diptères. (Compt. rend. de la soc. de biol. 1900. No. 32. p. 868—870.)

Massee, G., Origin of basidiomycetes. (Journ. of the Linnean soc. Botany. 1900. July.)

Oudemans, C. A. J. A., Contributions à la flore mycologique des Pays-Bas. XVII. (Overdr. Ned. Kruidk. Arch. S. III. T. II. 1900. St. 1. p. 170—353.)

Reh, L., Ueber Schildbildung und Häutung bei Aspidiotus perniciosus Comst. (Zoolog. Anzeiger. 1900. No. 624. p. 502—504.)

Seurat, L. G., Observations biologiques sur les parasites des chênes de la Tunisie. (Annal. d. scienc. natur. zoolog. 1900. T. XI. No. 1. p. 1—34.)

Smith, A. L., New microscopic fungi. (Journ. of the Royal microsc. soc. 1900. Aug.)

Beziehungen der Bakterien und Parasiten zur unbelebten Natur.

Boden.

Rimbach, Ch., Investigations on the determination and composition of humus and its nitrification. (Journ. of the Amer. chem. soc. 1900. Oct. p. 695—703.)

Nahrungs- und Genußmittel im allgemeinen, Gebrauchsgegenstände.

Bier, Brauerei.

Lindner, P., Ueber schädliche Einflüsse von Geruchsstoffen in der Brauerei, insbesondere solcher, die durch Schimmel- und Fäulnispilze verursacht werden. (Wochenschr. f. Brauerei. 1900. No. 41. p. 605—607.)

Neumann, O., Untersuchungen einiger obergäriger Brauereibetriebshefen. (Wochenschr. f. Brauerei. 1900. No. 37. p. 557—559.)

Wein, Weinbereitung.

Rosenstiehl, A., Sur le bouquet des vins obtenus par la fermentation des moûts stérilisés par la chaleur. (Rev. de viticult. 1900. No. 352. p. 281—286.)

Beziehungen der Bakterien und Parasiten zu Pflanzen.

Harmlose Bakterien und Parasiten.

Clos, D., Les tuberculoïdes des légumineuses d'après Charles Naudin. (Bullet. de la soc. botan. de France. Sér. III. T. VI. 1899. No. 8. p. 396—403.)

Krankheitserregende Bakterien und Parasiten.

Arthold, M., Zum Auftreten des Weinstock-Fallkäfers. (Weinlaube. 1900. No. 34. p. 397—398.)

Baldensperger, F., Ein Beitrag zum Bespritzen und Schwefeln der Reben. (Landwirtschaftl. Ztschr. f. Elsaß-Lothringen. 1900. No. 39. p. 532.)

Barlow, E., Notes on insect pests from the entomological section, Indian Museum. (Ind. Mus. notes. Vol. V. 1900. No. 1. p. 14—34.)

Bouchard, A., Les parasites des cultures de laitues et carottes porte-graines dans la vallée d'Anjou. (Rev. de viticult. 1900. No. 352. p. 294—296.)

Bubák, F., Ueber Milben in Rübenwurzelkröpfen. (Sep.-Abdr. a. Ztschr. f. d. landwirtschaftl. Versuchswesen in Oesterreich.) 8°. 15 p. Wien 1900.

Castel-Delétrez, G., Destruction des chardons et des sanves par le sulfate d'ammoniaque. (Journ. de la soc. roy. agric. de l'est de la Belgique. 1900. p. 112; Bullet. hortic., agric. et apic. 1900. p. 130.)

Chevalier, Ch., Préparation de la bouillie bordelaise. (Belgique hortic. et agric. 1900. p. 162—163.)

Deininger, Die Bekämpfung der Herbstzeitlose. (Wochenbl. d. landwirtschaftl. Vereins in Bayern. 1900 No. 36. p. 715.)

Del Guercio, G., Osservazioni naturali ed economiche per gl'insetti che devastano le coltivazioni erbacee nella valle di Bientina. Osservazioni naturali ed economiche sulla simete del fico o Limaethis nemorana Hüb. Sul valore vero di un nuovo liquido antiparassitico. (Nuove relazioni intorno ai lavori d. r. stazione di entomol. agrar. di Firenze. Ser. I. 1900. No. 2.)

Dumont, R., Essais de destruction des moutardes ou sanves par les solutions ferriques et cupriques. (Cooperat. agric. 1900. No. 21.)
Hölzel, Ein Wort zur Reblausfrage nach beendigten Untersuchungen im September 1900 auf Vorhandensein der Reblaus im Großherzogtum Hessen. (Hessische landwirtschaftl. Ztschr. 1900. No. 39. p. 544.)
Kolbe, H. J., Ueber einen neuen Rübenschädling vom Mittelrhein. Ceutorrhynchus Ruebsaameni n. sp., nebst Bemerkungen über einige verwandte Arten. (Entomol. Nachrichten. 1900. No. 15/16 p. 227—232)
Laborde, J., Etude sur la cochylis et les moyens de la combattre par les traitements d'hiver. [2. partie.] (Rev. de viticult. 1900. No. 354, 356. p. 339—342, 399—406.)
Laborde, J., Rapport sur les moyens de combattre la cochylis de la vigne par les traitements d'hiver. (Ministère de l'agricult., Direction de l'agricult. Paris. Bullet. 1900. No. 3. p. 373—392.)
Lavergne, G., La cuscute de la vigne et l'oïdium au Chili. (Rev. de viticult. 1900. No. 354. p. 345—347.)
Magnus, W., Studien an der endotrophen Mycorrhiza von Neottia, Nidus avis L. (Jahrb. f. wissenschaftl. Botanik. Bd. XXXV. 1900. Heft 3. p. 205—272.)
Marlatt, C. L., Insecticidas importantes: uso e preparo. (Bolet. da agricult. do Estado de São Paulo. Ser. I. 1900. No. 1. p. 49—81.)
Moszeik, Schützt den Weizen vor Brand. (Thüringer landwirtschaftl. Ztg. 1900. No. 40. p. 316—317.)
Oehmichen, Der Steinbrand des Weizens und seine Bekämpfung. (Ztschr. d. Landwirtschaftskammer f. d. Prov. Schlesien. 1900. Heft 34. p. 1142—1145.)
Paddock, W., European apple tree canker in America. (Science. N. S. Vol. XII. 1900. No. 295. p. 297—299.)
Parmentier, P., Sur la maladie des sapins d'Arc-sous-Cicon (Doubs). (Université de Besançon Instit. botan. 1900, No. 7. p. 1—7.)
Petermann, A., La nocuité du nitrate perchloraté. (Luxembourgeois. 1900. p. 213—214, 228—230.)
Ritzema Bos, J., Naschrift bij het opstel over „Schadelijkheid der meidorenhoggen om tuinen en ankers". Tijdschr. over plantenziekten. Jaarg. VI. 1900. Aflev. 3/4. p. 90—91.)
Salfeld, Vernichtet Aetzkalk die Leguminosenpilze auf hohem, leichtem Sandboden? (Hannoversche land- u. forstwirtschaftl. Ztg. 1900. No. 39. p. 697—699.)
Schribaux, E., Nouveaux agents de destruction des mauvaises herbes. (Journ. d'agric. prat. 1900. No. 39. p. 469—470.)
Small, Ermine, Moths (Hyponomeuta). (Journ. of the Board of Agricult. London. 1900. Sept. p. 167—169.)
Staes, G., Het wit van de schorseneel. (Cystopus Tragopogonis Schroet.) (Tijdschr. over plantenziekten. Jaarg. VI. 1900. Aflev. 3/4. p. 92—97.)
Staes, G., De erwtenkever en zijne bestrijding (Bruchus Pisi). (Tijdschr. over plantenziekten. Jaarg. VI. Aflev. 3/4. p. 105—123.)
Teschendorff, V., Die Obstbaumblätter und deren Schädlinge. (Mitt. d. k. k. Gartenbau-Gesellsch. in Steiermark. 1900. p. 131—136.)
Trotter, A., Comunicazione intorno a varî acarocecidi nuovi o rari per la flora italiana. (Bullett. d. soc. botan. ital. 1900 No. 6. p. 191—203.)

Inhalt.

Original-Mitteilungen.

Referate.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.

CENTRALBLATT

für

Bakteriologie, Parasitenkunde u. Infektionskrankheiten.

Zweite Abteilung:

Allgemeine, landwirtschaftlich-technologische Bakteriologie, Gärungsphysiologie, Pflanzenpathologie und Pflanzenschutz.

In Verbindung mit
Prof. Dr. **Adametz** in Wien, Prof. Dr. **J. Behrens** in Weinsberg i. W., Prof. Dr. **M. W. Beijerinck** in Delft, Dr. **v. Freudenreich** in Bern, Privatdocent Dr. **Lindau** in Berlin, Prof. Dr. **Lindner** in Berlin, Dr. **Morris**, Chef des Hansen-Laboratory, Jenner-Institute of Preventive Medicine in London, Prof. Dr. **Müller-Thurgau** in Wädensweil, Dr. **Erwin F. Smith** in Washington, D. C., U. S. A., Prof. Dr. **Stutzer** in Breslau, Prof. Dr. **Wehmer** in Hannover, Prof. Dr. **Weigmann** in Kiel und Prof. Dr. **Winogradsky** in St. Petersburg

herausgegeben von

Dr. O. Uhlworm in Cassel

und

Prof. Dr. Emil Christian Hansen in Kopenhagen.

Verlag von Gustav Fischer in Jena.

VI. Band. Jena, den 31. Dezember 1900. **No. 26.**

Jährlich erscheinen 26 Nummern. Preis für den Band (Jahrgang) 20 Mark. Preis für eine einfache Nummer 75 Pfg., für eine Doppelnummer 1 Mark 50 Pfg. Nummern mit Tafeln kosten für jede Tafel 50 Pfg. mehr.

Hierzu als regelmäfsige Beilage die Inhaltsübersichten der I. Abteilung des Centralblattes.

Inhaltsverzeichnis.

I. Verzeichnis der in Band VI enthaltenen Arbeiten.

II. Namen- und Sachregister.

III. Verzeichnis der Abbildungen.

IV. Neue Litteratur.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena